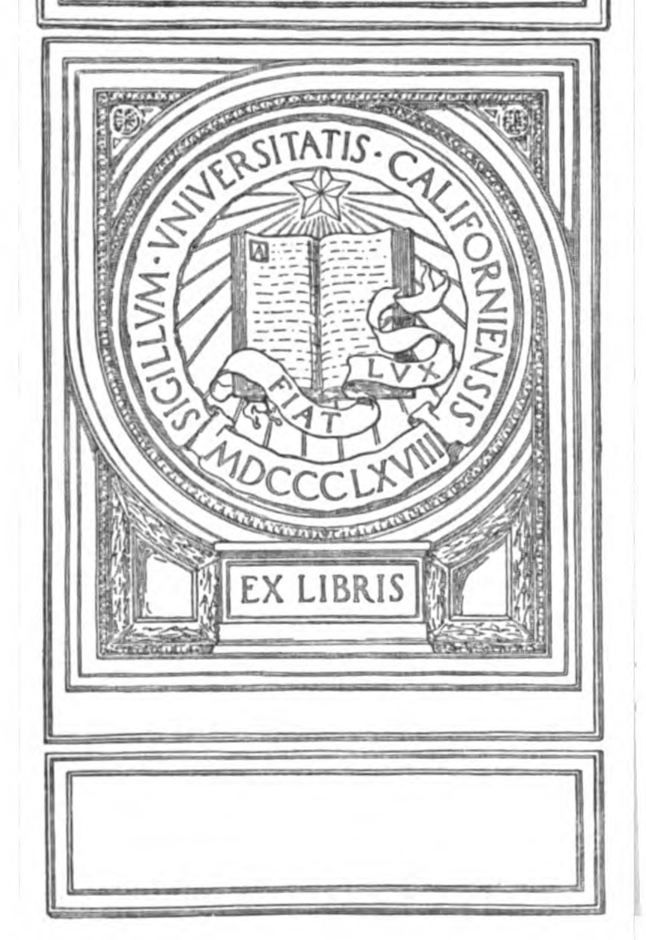



SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
FIAT LVX
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS

ZEITSCHRIFT

FÜR

HYGIENE

UND

INFECTIONSKRANKHEITEN.

HERAUSGEGEBEN

VON

DR. R. KOCH, UND DR. C. FLÜGGE,

GEH. MEDICINALRATH UND DIRECTOR DES INSTITUTES FÜR INFECTIONSKRANKHEITEN ZU BERLIN,

O. Ö. PROFESSOR UND DIRECTOR DES HYGIENISCHEN INSTITUTES DER UNIVERSITÄT BRESLAU.

EINUNDDREISSIGSTER BAND.

MIT ZAHLREICHEN ABBILDUNGEN IM TEXT UND ZWEI TAFELN.



LEIPZIG,

VERLAG VON VEIT & COMP.

1899.

Druck von Metzger & Wittig in Leipzig.



Inhalt.



Berichtigungen.

In der Abhandlung von Dr. Sobernheim, S. 89 bis 132 dieses Bandes, ist zu lesen:

S. 89, Z. 6 v. o., statt „immunisirter Thiere eigen sind" **„immunisirter Thiere nicht eigen sind".**
S. 95, Z. 3 u. 4 v. o., statt „während in den Fällen" **„während in dem einen Falle".**
S. 96, Z. 6 v. u., statt „bei vielen Thieren" **„bei diesen Thieren".**
S. 100, Tab. IV, Z. 2 u. 3 v. o., statt „Impfung mit $4^1/_2$ Massenculturen" **„Impfung mit $1^1/_2$ Massenculturen".**
S. 104, Z. 4 v. u., statt „Seruminfection" **„Seruminjection".**
S. 111, Z. 3 v. u., statt „beweisen" **„begreifen".**
S. 113, Z. 4 v. u., statt „zweifellos" **„gleichfalls".**
S. 114, Z. 18 v. o., statt „Cultur" **„Structur".**
S. 119, Z. 1 u. 2 v. u., statt „auch Sclavo" **„durch Sclavo".**
S. 120, Z. 2 v. u., statt „vereinigte" **„vereinigt".**
S. 121, Z. 15 v. o., statt „virulentesten" **„virulentestem".**
S. 121, Z. 17 v. o., statt „16 ^{ccm}" **„10 ^{ccm}".**
S. 126, Z. 1 v. o., statt „hiernach" **„hier noch".**
S. 128, Z. 14 v. u., statt „hatten" **„haben".**

Bakteriolytische Enzyme als Ursache der erworbenen Immunität und die Heilung von Infectionskrankheiten durch dieselben.

Von

Rudolf Emmerich und **Oscar Löw.**

In den letzten 15 Jahren haben sich viele der hervorragendsten Bakteriologen mit der Erforschung der Ursachen der erworbenen oder künstlichen Immunität, sowie des Heilungsvorganges bei Infectionskrankheiten beschäftigt.

Aber auch heute noch sind die Ansichten über das Wesen dieser Vorgänge, deren Erkenntniss grosse Fortschritte der Therapie und Prophylaxe veranlassen wird, sehr verschieden. Beweise für die Richtigkeit irgend einer Ansicht wurden bis jetzt nicht erbracht. Man kann höchstens von Theorieen reden, welche zur Erklärung dieser bisher noch so dunkeln Naturvorgänge aufgestellt wurden. Unsere Abhandlung würde einen für diese Zeitschrift zu grossen Umfang erreichen, wollten wir diese Theorieen in ihrer Gesammtheit erörtern und kritisch beurtheilen.

Wir beschränken uns deshalb darauf, nur diejenigen Hypothesen hier kurz aufzuführen, welche der Wahrheit am nächsten kommen, oder dieselbe sogar bei der einen oder der anderen Infectionskrankheit im Allgemeinen speculativ erschlossen haben, ohne dass bis jetzt experimentelle Belege für diese bis heute nur hypothetischen Aufstellungen und Vermuthungen erbracht wurden.

Schon vor mehr als 10 Jahren hat der Eine von uns (Emmerich) die Ansicht aufgestellt und vertreten, dass die künstliche Immunität durch im Blute und in den Gewebsflüssigkeiten gelöste, chemische Stoffe bedingt sei, eine Ansicht, welche heute fast allgemein anerkannt ist.



Nencki[1] war der Erste, welcher behauptete, dass diese chemischen Körper enzymartiger Natur seien. In neuerer Zeit hat auch R. Pfeiffer[2] diese Substanzen als Enzyme ganz besonderer Art erklärt, „da sie nur in absolut specifischer Weise auf ein einziges Bakterienprotoplasma abgestimmt sind, indem sie im Thierkörper die organisirte Bakteriensubstanz zur Quellung und Lösung bringen."

Wir werden im Folgenden zum ersten Mal Beweise für die Ansicht erbringen, dass die immunisirenden Stoffe enzym- oder fermentartiger Natur sind und dass Nencki und R. Pfeiffer in dieser Beziehung ganz im Rechte sind.[3] Dagegen trifft die Ansicht, nach welcher das Enzym des Immunserums nicht von den Bakterien, sondern vom Thierkörper stamme, nicht zu (hierüber siehe unten bei VI). Weiterhin giebt es Enzyme, welche nicht ausschliesslich auf ein Bakterienprotoplasma abgestimmt sind, sondern auch solche, welche verschiedene Arten von Bakterien aufzulösen vermögen, wie z. B. das Enzym des Bacillus pyocyaneus, für welches wir den diesbezüglichen Beweis durch die folgenden experimentellen Untersuchungen erbringen werden.

Diese Untersuchungen wurden veranlasst durch eine sehr einfache Beobachtung, die gewiss schon viele Bakteriologen gemacht, aber nicht weiter beachtet, oder nicht richtig gedeutet haben.

Der Eine von uns (O. Löw) beobachtete zuerst, dass Bakterien-Mischculturen, welche (nach dem Resultat von Gelatineplattenculturen) den Bacillus pyocyaneus in vorherrschender Zahl enthielten, dicke Bakterienhäute an der Oberfläche und ein reichliches Bakteriensediment bildeten, die aber beide bei längerem Stehen fast vollständig aufgelöst wurden. Lässt man eine Cultur des Bacillus pyocyaneus in künstlicher Nährlösung bei 37° C. stehen, so hat sich nach 3 Tagen eine dicke Oberflächenhaut (aus Bacillen bestehend) gebildet. Beim Schütteln zerreisst dieselbe und die einzelnen Stücke fallen zu Boden. Nach 3 Tagen hat sich aber wieder eine neue Bakterienhaut an der Oberfläche gebildet. Dieser Vorgang wiederholt sich bei in Intervallen von einigen Tagen ausgeführtem Schütteln in geeigneter Nährlösung 6 bis 8 Mal oder noch öfter. Schliesslich aber ist ein ganz geringer Bodensatz vorhanden, welcher dem Gewichte nach einen sehr kleinen Bruchtheil des Gewichtes der wiederholt gebildeten

[1] *Schweizer Wochenschrift für Pharmacie.* 1891. Nr. 29.

[2] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1896. Nr. 7 u. 8.

[3] Dr. Schweinitz hat für Hog-Cholera dargethan, dass das heilende Princip ein Enzym ist, was uns allerdings erst nach Vollendung unserer Arbeit bekannt geworden ist. Dieses Enzym hat sich jedoch als sehr giftig erwiesen, wenn eine gewisse Menge bei subcutaner Injection überschritten wurde. *The Medical News.* October 1892.



Bakterienoberflächenhäute ausmacht. Untersucht man den Bodensatz der einige Wochen alten Cultur mikroskopisch, so findet man, ausser sehr vereinzelten Stäbchen ähnlichen Gebilden, nur feinkörnige, mit Fuchsinlösung sich färbende Massen, welche wohl als Zerfallsproducte der Bacillen aufzufassen sind, sowie runde, sich nicht färbende, wahrscheinlich aus Fett bestehende Tröpfchen und ausserdem noch verschiedenartige Krystalle. Somit lässt sich auch mikroskopisch nachweisen, dass die gesammte üppige Bakterienvegetation aufgelöst wurde. Wenn man die Cultur 8 Tage früher untersucht, so kann man noch zahlreiche, mit Fuchsin sich sehr schwach färbende Stäbchen neben vereinzelten gutgefärbten sehen, wie dies aus Fig. 2 der in dieser Zeitschrift zu veröffentlichenden Abhandlung von Dr. Saida, „Ueber die Veränderung der Bakterienzellen durch bakteriolytische Enzyme", ersichtlich ist. Das Protoplasma der ersteren ist offenbar aufgelöst. Der in einer 6 Wochen alten Cultur verbleibende geringe Bodensatz löst sich zum grössten Theil in verdünnten Mineralsäuren.

Weiterhin fand R. Emmerich, dass in Bouillonreinculturen von Schweinerothlaufbacillen nach kurzer Zeit wirkliche Agglutination im Reagensglase eintritt, insofern die Anfangs gleichmässig in der Bouillon vertheilten Bacillen sich zu schleimigen Massen am Boden des Reagensglases zusammenballen. Während die Bouillon Anfangs wie durch feinste Krystalle gleichmässig getrübt ist, klärt sie sich nach 2 bis 3 Tagen und am Grunde des Reagensglases sitzt ein kaum linsengrosses Häufchen von Bacillen, welches beim Schütteln wie ein Convolut in einander verschlungener und verklebter feinster Fasern in der Flüssigkeit flotirt, wobei die schleimige Fasermasse noch am Boden festhaftet. Giesst man die überstehende Bouillon theilweise von dem, im wahren Sinne des Wortes „agglutinirten" Bodensatz ab und überträgt man etwa einen Cubikcentimenter der Bouillon, in welcher Theile des agglutinirten Bodensatzes schwimmen, in eine neue Bouillonprobe, so ist in dieser schon nach viel kürzerer Zeit bei 25° C. abermals ein agglutinirter Bodensatz gebildet, der aber der Menge nach viel geringer ist, als der erste; und wenn man nun noch ein oder zwei Mal in gleicher Weise die Uebertragung vornimmt, so ist schliesslich eine Trübung und ein Bodensatz überhaupt nicht mehr wahrnehmbar, die Bacillenmasse wurde nahezu vollständig bis auf mikroskopisch kaum mehr wahrzunehmende Quantitäten gelöst.

Unter Umständen, d. h. nach häufiger Uebertragung grösserer Mengen von abgelaufenen Bouillonculturen, werden in Folge der hierdurch bedingten Anhäufung von bakteriolytischem Enzym die Rothlaufbacillen schliesslich sogar vollständig gelöst und die Uebertragung der Cultur gelingt nun nicht mehr.



Diese und andere Beobachtungen zeigen, dass auch in Flüssigkeitsculturen Agglutination und, wie wir noch ziffernmässig zeigen werden, **vollständige** Lösung der Bakterien beobachtet werden kann, ferner, dass die Agglutination von Bakterien nicht etwa nur eine Eigenschaft der Immunsera ist. Diese Erscheinungen der Agglutination und Lösung der Bakterien werden, wie wir weiterhin zeigen werden, durch **Enzyme** verursacht, welche schon in den Culturen nicht etwa erst in dem durch die pathogenen Bakterien „umgestimmten" thierischen oder menschlichen Organismus gebildet werden.

Wenn dies richtig ist — und aus unseren Untersuchungen geht hervor, dass es sich so verhält —, dann lassen sich die Erscheinungen der Agglutination, die künstliche Immunität, das Verhalten von Immunserum und specifischen Bakterien in vitro, sowie der Heilungsvorgang bei verschiedenen bakteriellen Infectionskrankheiten leicht erklären.

Man kann bei Flüssigkeitsculturen einer grossen Zahl von Bakterienarten (Bacillus pyocyaneus, Schweinerothlaufbacillus u. s. w.) beobachten, dass der totalen Auflösung ein „Schleimigwerden" der am Boden der Gefässe sitzenden Bakterienmassen vorhergeht. Dieses Schleimigwerden ist dieselbe Erscheinung, welche neuerdings als „Agglutinirung" beschrieben wurde.

Die agglutinirende Wirkung der Immunsera ist also keineswegs eine aparte, nur dem Blute oder Serum eigenthümliche Erscheinung.

Dass die Agglutinirung beim Zusatz von Immunserum zur Bakteriencultur nach sehr kurzer Zeit eintritt, während der Beginn derselben in Culturen erst nach einem oder mehreren Tagen beobachtet wird, ist darin begründet, dass mit dem Immunserum grössere Mengen fertigen Enzyms den Culturen zugesetzt werden, während in frischen Bouillonculturen das Enzym erst allmählich neu gebildet wird.

Wenn die Membran der Bakterien aufgelöst wird, bildet das „Schleimigwerden" oder „Agglutiniren" ein intermediäres Stadium; es ist die beginnende Verquellung der Membranen.[1] Dass nun ein Bakterienmembranen lösendes Enzym wohl Bakterien schaden kann, für das Thier aber unschädlich ist, begreift sich leicht, denn im thierischen Organismus kommen jedenfalls keine Membranen vor, welche chemisch identisch mit denen der Bakterien sind.

Ebenso hat es nichts Befremdendes, dass Organismen Enzyme bilden können, welche den ersteren selbst wieder schädlich sind; man braucht

[1] Die hypothetische Annahme specieller Agglutinine ist überflüssig.

nur zu bedenken, dass Eiweiss lösende Enzyme von dem selbst aus Eiweissstoffen bestehenden Protoplasma (bezw. Kern) hoher, wie niederer Organismen producirt werden. Die uns gut bekannten Enzyme greifen allerdings lebendes Protoplasma nicht, sondern nur todtes an, wie z. B. die postmortale Pepsinwirkung auf die Magenwand zeigt. Dass aber manche Enzyme in gewisser Concentration auch lebendes Protoplasma lösen können, kann nicht abgesprochen werden und manche Beobachtungen sprechen sehr zu Gunsten einer solchen Auffassung. Dass weiterhin Pilze Cellulose lösende Enzyme ausscheiden können, welche die Cellulose des Pilzes selbst wieder lösen, lehren uns interessante Beobachtungen R. Hartig's. Manche parasitäre Pilze dringen im Holze lebender Bäume dadurch rasch vorwärts, dass die Spitzen der Mycelfäden ein Cellulose lösendes Enzym ausscheiden, dasselbe Enzym löst nun nach einiger Zeit die älteren Partieen des Pilzmycels selbst so radical auf, dass man von den Pilzfäden selbst nichts mehr entdecken kann; nur die vorwärts dringenden Partieen bleiben eine Zeit lang von der lösenden Wirkung des eigenen Enzyms verschont.

Ganz ähnlich verhalten sich die Bakterien, insofern in Flüssigkeitsculturen die älteren vegetativen Formen gelöst werden, während die jungen Zellen sich eine Zeit lang weiter vermehren. Man findet daher in älteren Flüssigkeitsculturen Bakterienzellen in den verschiedensten Stadien der Auflösung. Jedem Bakteriologen sind diese „Degenerationsformen" der Bakterien in alten Culturen wohl bekannt. Man hatte aber bisher nicht erkannt, dass die Entstehung derselben auf die Wirkung eines bakteriolytischen Enzyms in den Culturen zurückzuführen ist. Derartige, durch das Pyocyaneus-Enzym veränderte Bakterienzellen, deren Protoplasma ganz gelöst ist, zeigt die Fig. 2 in der Abhandlung von Dr. Saida.

Wenn die Fäulniss einer 5- bis 10procentigen Eiweisslösung bei Luftabschluss eine Zeit lang im Gange war, kommt sie bekanntlich zum Stillstand, was man der den Bakterien schädlichen Wirkung des entstandenen H_2S und Indol zuschreibt.

Der Eine von uns (Löw) hat sich indessen überzeugt, dass nach dem Aufhören der Fäulniss ein Eiweisskörper in Lösung ist, welcher nach dem Fällen mit Alkohol, in schwachem Alkali gelöst, baktericide, bezw. bakteriolytische Wirkungen besass. Bei sehr vielen Bakterienculturen scheint der Stillstand der Entwickelung einzutreten, wenn so viel bakteriolytisches Enzym gebildet ist, dass die erreichte Concentration ausreicht, die jeweils neugebildeten Bakterien zu lösen. Dass ein von einer bestimmten Bakterienart secernirtes Enzym nicht auf die Membranen sämmtlicher Bakterienarten lösend wirken kann, ist wohl begreiflich; denn es sind für Membransubstanzen eine grosse Anzahl von Isomeren möglich, welche mit

unseren gewöhnlichen chemischen Mitteln nicht zu unterscheiden sind, andererseits differiren die Membranen substantiell sehr erheblich bei Pilzen und kommen ausser Cellulose (z. B. bei der Essigmutter) auch Chitin und chitinähnliche Substanzen (wenigstens bei höheren Pilzen) und wahrscheinlich auch proteïnartige Stoffe in Betracht. Bei vielen Bakterienarten, besonders pathogenen, dürfte das Letztere der Fall sein und damit würde in Uebereinstimmung sein, dass von ein und demselben Enzym Membran wie Protoplasma gelöst werden kann.[1]

Die von verschiedenen Bakterienarten secernirten Enzyme sind sicherlich öfters verschieden, vielleicht isomer, und daraus wäre dann zu erklären, dass man manchmal mit den sogenannten „Stoffwechselproducten“ nur einer einzigen Art die Infection durch dieselbe Art heilen kann, während in anderen Fällen eine bestimmte Infectionskrankheit durch die „Stoffwechselproducte“ verschiedener Bakterienarten heilbar ist. Es ist aber drittens auch möglich, verschiedene Infectionskrankheiten durch die sogenannten „Stoffwechselproducte“ einer einzigen Bakterienart in Heilung überzuführen.

Freilich das, was man früher als „Stoffwechselproducte“ der Bakterien bezeichnete und die Heilung bedingen sollte, sind keineswegs solche, sondern unsere Enzyme.

Wenn z. B. abgetödtete Culturen des Erysipelcoccus Milzbrand heilen können (Emmerich) oder Gonorrhoe (Schmidt), so lässt sich das nach unserer Ansicht dahin erklären, dass Erysipelkokken ein Enzym produciren, das nicht nur die Membranen der Erysipelkokken, sondern auch die der Milzbrandbacillen und der Gonokokken lösen kann. Dasselbe gilt von der Anwendung abgetödteter Pyocyaneusculturen bei Typhus (Rumpf) oder Milzbrand (Bouchard, Charrin, Woodhead, Wood, Hüppe).

Wahrscheinlich werden die Enzyme in den Bakterien als Zymogene producirt und die Enzymnatur erst ausserhalb entwickelt, in gewissen Fällen vielleicht erst unter Lufteinfluss. Der Umstand, dass auch die Presssäfte der Bakterien, wie H. Buchner zeigte, in gewissen Fällen heilen können, beruht jedenfalls auf einem Gehalt von Enzym (bezw. Zymogen); denn Protoplasmatheile selbst sind in gut filtrirten, nicht mehr opalisirenden Pressäften nicht anzunehmen, da das organisirte Protoplasma in Wasser nicht löslich ist.

Dass vorzugsweise das Enzym einer bestimmten Art geeignet ist, die Membranen derselben Art aufzulösen, erklärt sich dadurch, dass

[1] Ueber Pilzmembranen vgl. auch Wisselingh, *Jahrb. für wissenschaftliche Botanik.* Bd. XXXI. S. 619. Nencki hat gezeigt, dass die Membranen von Fäulnisspilzen stickstoffhaltig sind.



Membran wie Enzym Producte ein und desselben Protoplasten sind. Die Configuration der Plasmaproteide[1] bestimmt nicht nur die Tektonik des Protoplasten, sondern auch die Configuration des secernirten Enzyms und endlich die Configuration und Organisation der Membran der Zelle. Es werden also wahrscheinlich Enzym und Membran eine gewisse Moleculargeometrie gemeinsam haben, in Folge dessen ein Eingriff des eigenen Enzyms in die eigene Membran der dasselbe erzeugenden Bakterien- oder Pilzart erleichtert wird, sobald eine gewisse Concentration des secernirten Enzyms erreicht ist.[2] Man könnte der Einfachheit halber die Ausdrücke conform und heteroform einführen. Als conform sind z. B. Stärke mit Diastase, Invertin mit Rohrzucker, als heteroform: Inulin mit Diastase, Emulsin mit Galactan aufzufassen. Conform wäre das Enzym des Pyocyaneus mit der Membran des Milzbrandbacillus; heteroform das Enzym des Pyocyaneus mit der Membran des Rothlaufbacillus der Schweine.

Es mag hier noch darauf hingewiesen werden, dass Organismen, welche gewisse Polysaccharide produciren, auch stets die betreffenden Enzyme besitzen, dieselben wieder zu lösen. Thiere oder Pilze, welche Glykogen aufspeichern, besitzen Diastase zu dessen Wiederlösung; Pflanzen, welche Inulin in der Wurzel speichern, produciren auch Inulose, solche, welche Stärke speichern, auch Diastase, und es ist besonders von Interesse, dass das Vorkommen von Amygdalin mit dem des Emulsins (jedoch nicht umgekehrt) zusammengeht, dass das Myrosin sich da findet, wo das myronsaure Kali auch zu spalten ist.

Andererseits beobachten wir allerdings, dass Anpassungserscheinungen die schädlichen Wirkungen der producirten activen Substanzen auf die eigenen Zellen vermeiden. Die Alexine einer bestimmten Blutart wirken z. B. nur auf die Blutkörperchen mancher anderer Blutarten ein, nicht auf die eigenen.

Dass Alexine und die Blutkörperchen lösende Substanz des Blutes verschiedene Substanzen sind, hat Hahn gezeigt. Dieser Umstand erklärt nun leicht die Thatsache, dass, wie der Eine von uns (Emmerich) zuerst beobachtete, durch Alkalien die Alexinwirkung nach deren Verlust

[1] Der Eine von uns (Löw) hat schon früher (1893) bei Discussion der specifischen Giftwirkung auf die Wichtigkeit einer gewissen Configuration der einen specifischen Protoplasten zusammensetzenden Eiweisskörper aufmerksam gemacht. (Natürl. System der Giftwirkungen, Cap. V und VI.)

[2] Hierauf mag auch die Auflösung der Leguminosenbakterien, bezw. der daraus entstehenden Bakteroiden in dem Wurzelgewebe zu beziehen sein. Man schreibt allgemein die Auflösung der Bakteroiden der Thätigkeit der Wurzelzellen zu — wahrscheinlich mit Unrecht.



durch Erwärmen wieder hergestellt werden kann, aber nicht mehr die Blutkörperchen lösende Eigenschaft.[1]

Die Menge des Alexins in einer gegebenen Blutart kann nur sehr minimal sein, wenn man bedenkt, dass die Menge der Bakterien, welche von 1 ccm Blutserum getödtet werden können, nur etwa 500000 beträgt und dass andererseits bei Erhöhung dieser Zahl die Bakterien üppig im Serum gedeihen. Wie enorm ist jener Alexinwirkung die der „Immunsera" überlegen! An 29 Millionen Cholerabacillen können, wie wir fanden, von 1 ccm Choleraimmunserum in 24 Stunden vernichtet werden (s. unten).

Die Alexine sind wahrscheinlich auch bakteriolytisch wirkende Enzyme, welche durch Bakterienenzyme leicht zerstört werden, wenn die Bakterienaussaat relativ gross ist. Jedenfalls kann nicht das gesammte Bluteiweiss für die Alexinwirkung verantwortlich gemacht werden.

Es ist ferner auch wohl denkbar, dass eine Bakterienart geradezu die lösende Wirkung einer anderen in einem Thierkörper aufheben kann, oder dass dieselbe den natürlichen Heilungsvorgang, welcher durch die bakteriolytische Wirkung des von den specifischen Krankheitsbakterien gebildeten Enzyms verursacht ist, aufhält. Dies tritt ein, wenn ein Enzym von der ersteren Art producirt wird, welches das Enzym der zweiten Art zerstört. Dass Enzyme einander zerstören können, ist ja eine öfters gemachte Beobachtung. Wir wollen hier nur auf eine interessante Beobachtung R. Hartig's hinweisen. Wenn die Eiche von zwei bestimmten Parasiten befallen wird, nämlich von Polyporus igniarius und Polyporus chyadeus, und die Mycelfäden dieser Pilze sich einander im Holze begegnen, so bleibt das im Holze gespeicherte Stärkemehl intact, obgleich jeder dieser Pilze eine energisch Stärkemehl lösende Diastase absondert. Es bleibt hier wohl nur der Schluss übrig, dass die beiden Diastasen in einander eingegriffen, sich vielleicht zu einem Körper verbunden haben, der nun keine Stärke lösende Wirkung mehr hat; die activen Atomgruppen haben eine Umänderung erfahren. Man könnte hier einen allerdings entfernter liegenden Vergleich herbeiziehen, dass nämlich optisch active Antipoden sich zu einer optisch inactiven Verbindung vereinigen.

Ueber die Natur der bakteriolytischen Enzyme werden wir nach dem Abschluss der diesbezüglichen Versuche Näheres mittheilen. Hier sei nur darauf hingewiesen, dass es Enzyme in verschiedenen Gruppen der Proteïnstoffe giebt; die einen (wie Diastase des Malzes) ähneln den Peptonen, andere mehr den Albumosen, und auch unter den Nucleoproteïden scheint

[1] Letzteres wurde von Flexner (*Medical News*, 1894) constatirt, welcher zugleich die Richtigkeit der ersterwähnten, von R. Emmerich festgestellten Thatsache bestätigte.



es Enzyme zu geben; denn ein derartiges, Blutgerinnung bewirkendes Enzym hat Peckelharing[1] aus Muskeln erhalten.

Bakteriolytische Enzyme sind auch im thierischen und menschlichen Körper stets vorhanden und möglicher Weise beruht auf ihrer Thätigkeit die natürliche Immunität gegen bakterielle Infectionskrankheiten.

Der reine und neutralisirte Magensaft hat nach London[2] eine typische baktericide Wirkung, welche bei einstündiger Digestion bei 55° C. nur dann aufgehoben wird, wenn sich hierbei ein flockiger Niederschlag ausscheidet; auch diese baktericide Wirkung des Magensaftes scheint durch ein Enzym verursacht zu sein. Es ist sehr wahrscheinlich, dass den im Magen, Darm u. s. w. vorhandenen bakteriolytischen Enzymen eine wichtige Rolle bei der natürlichen Immunität zukommt. Das gründliche Studium der bakteriolytischen Enzyme ist auch für die Therapie der Infectionskrankheiten von grossem Belang.

Die Thatsache, dass Bakterien Fermente ausscheiden, welche ihnen selbst schädlich sind und die Bakterien, nachdem die Fermente eine gewisse Concentration erreicht haben, auflösen, haben wir, wie erwähnt, zuerst bei Culturen des Bacillus pyocyaneus festgestellt. Derselbe wächst hauptsächlich nur an der Oberfläche der Nährflüssigkeit fort; die in Folge leichten Schüttelns zu Boden sinkenden Bakterienhäute werden immer wieder so vollständig aufgelöst, dass selbst nach 6wöchentlicher Cultur bei 37° C. nur eine kaum wägbare Menge von Bakterienresten vorhanden ist.

Wenn man eine Bouilloncultur von Bac. pyocyaneus bei Zimmertemperatur mehrere Wochen stehen lässt, so sammelt sich am Boden ein zähschleimiger „agglutinirter" Bodensatz an, der sich bei energischem Schütteln fast vollständig auflöst.

Auch die Thatsache, dass Bouilloncultnren von Schweine-Rothlaufbacillen überhaupt nur eine geringe Trübung durch die Bacillen zeigen, welche über ein bestimmtes Maass nicht hinausgeht und nach einigen Tagen zusehends geringer wird, ist darauf zurückzuführen, dass ein Theil der Bacillen stets wieder gelöst wird, während ein anderer näher an der Oberfläche sich durch oxydative Thätigkeit gegen das Enzym wehrt und sich dort vermehren kann.

---

[1] *Zeitschr. f. physiol. Chemie.* Bd. XXII. S. 245. — Nach Galeotti (*Z. f. physiol. Chemie*, Bd. XXV, S. 48) wäre die immunisirende Substanz in Choleraculturen ein Nucleoproteid. Auch solche Körper können aber Enzymnatur besitzen, welche eben nur vom Vorhandensein gewisser labiler Atomgruppen bedingt ist.

[2] London, *Arch. des sc. biolog.* 1897. Bd. V. p. 417.



Die weitere Ueberlegung nun, dass nach Bouchard[1] die Pyocyaneusbacillen die Milzbrandbacillen im Organismus zu vernichten vermögen, wie dies Emmerich zuerst für Erysipelkokken und Milzbrand nachgewiesen hatte, sowie die Untersuchungen von Rumpf[2] über die erfolgreiche Behandlung des Typhus abdominalis durch Pyocyaneusculturen veranlassten uns zunächst, quantitative Versuche über die Auflösung der Milzbrandbacillen durch Pyocyaneus-Enzym in vitro anzustellen.

Da es gebräuchlich ist, Enzyme durch die Endsilbe „ase“ schon im Namen zu charakterisiren, so könnte man die bakteriolytischen Enzyme auch als „Nucleasen“ zusammenfassen, da sie die Nucleoproteïde des Bakterienplasmas lösen. Wir schlagen vor, dass man diese Bezeichnung „Nucleasen“ in Zukunft für die bakteriolytischen Enzyme allgemein anwenden möge.[3]

Das bakteriolytische Enzym des Bacillus pyocyaneus nennen wir Pyocyanase, zumal dasselbe nicht bloss vom Bac. pyocyaneus stammt, sondern denselben auch auflöst. Ebenso benützen wir die Namen Cholerase, Diphtherase, Typhase u. s. w. für die von den betreffenden Bakterien stammenden Enzyme. Wie wir später noch weiter begründen werden, vermögen sich diese Enzyme der pathogenen Bakterien im Blute mit einem activen, wahrscheinlich aus den Leukocyten stammenden Eiweisskörper zu verbinden.

Den letzteren nennen wir Proteïdin, und die Verbindung desselben mit den Bakterienenzymen Immunproteïdin.

Zur näheren Unterscheidung der verschiedenen Immunproteïdine fügen wir noch die Namen der Bakterienenzyme dazu, unterscheiden also Pyocyanase-Immunproteïdin, Cholerase-Immunproteïdin, Typhase-Immunproteïdin u. s. w.

Diese neue Erkenntniss bestätigt und erweitert die im Jahre 1892 von R. Emmerich und J. Tsuboi[4] aufgestellte Theorie der künstlichen Immunität, nach welcher ein von den pathogenen Bakterien stammender Eiweisskörper im Blute des schutzgeimpften Thieres mit einem activen Eiweisskörper in Verbindung tritt, welcher wahrscheinlich aus vor Kurzem zu Grunde gegangenen, bezw. im Blute aufgelösten Leukocyten stammt.

[1] *Acad. Sciences*, 8. Avril 1888. Von 26 mit Milzbrand tödtlich inficirten und mit Pyocyaneusculturen behandelten Thieren blieben 12 am Leben.

[2] *Jahrbücher der Hamburger Staatskrankenanstalten.* 1896. Bd. IV.

[3] Ein Phosphorsäure abspaltendes Enzym hat Hahn auch im Hefepresssaft nachgewiesen.

[4] Die Natur der Schutz- und Heilsubstanz des Blutes. *Verhandlungen des Congresses für innere Medicin.* 1892. S. 202ff. Wiesbaden.

Emmerich und Tsuboi haben diese Ansicht, dass hierbei ein von den Leukocyten stammender, bakericider Eiweisskörper in Betracht komme, im Jahre 1892 zuerst vor allen anderen Autoren, welche später diese Frage bearbeiteten, vertreten, was um so mehr zu bemerken ist, als ihre Namen bei der Discussion dieses, neuerdings so vielseitig bearbeiteten Problems nie citirt werden. Bei der Lösung desselben haben doch Diejenigen ein grosses Verdienst, welche zuerst die richtige Erklärung gegeben haben. Den von den Leukocyten stammenden, baktericiden Eiweisskörper nannten Emmerich und Tsuboi Immunproteïn und die die künstliche Immunität bedingende, baktericide Verbindung beider Eiweisskörper bezeichneten sie als Immunprotoïdin. Jetzt wissen wir, dass der „von den pathogenen Bakterien stammende Eiweisskörper" ein bakteriolytisches Enzym ist und dass das Immunproteïdin noch die bakteriolytischen Eigenschaften dieses Enzyms besitzt.

Auf Grund der Versuche von Bouchard[1] u. A. durften wir erwarten, dass unsere Pyocyaneus-Enzymlösung auch in vitro Milzbrandbacillen vernichten, oder, besser gesagt, auflösen werde. Die Richtigkeit dieser Annahme wurde in der That alsbald durch das Untersuchungsresultat bestätigt.

I. Auflösung von Milzbrandbacillen durch Pyocyaneus-Enzymlösung in vitro.

Am 13. Mai 1898 wird eine kaum stecknadelkopfgrosse Menge Anthraxbacillen von einer 36 Stunden bei 22° C. gewachsenen, aus der Milz eines verendeten Kaninchens hergestellten Nähragarcultur in 4 ccm Pyocyaneus-Enzymlösung verrieben und gut gemischt.

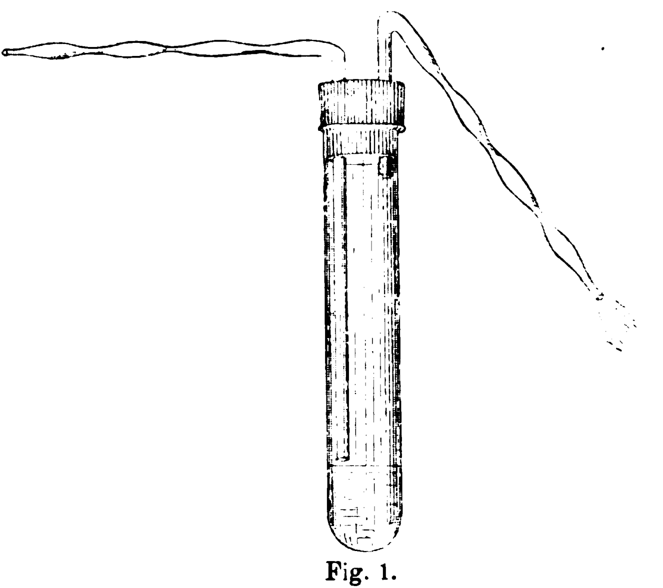


Fig. 1.

Nach ca. 10 Min. werden 0·01, 0·03 und 0·05 ccm dieser Anthraxbacillen-Aufschwemmung in Nährgelatine gebracht und diese in Petrischalen ausgegossen.

Alsdann wurde die Aufschwemmung in mit Wasserstoff gefülltem zu-

[1] *Maladies infectieuses.* 1887—1888.



geschmolzenem Reagenzglas, wie Fig. 1 zeigt, bei 22° C. aufbewahrt und nach 5 und 17 Stunden abermals 0·01, 0·05 und 0·1 ccm auf Gelatineplatten ausgesäet. Nach jeder Probeentnahme wurde wieder Wasserstoff durch das Reagensglas 1/4 Stunde lang durchgeleitet und die beiden Röhren zugeschmolzen.

Das Wasserstoffgas wurde selbsverständlich durch vorgelegte Bleinitrat- und Silbernitratlösung von etwa beigemengtem Schwefelwasserstoff und Arsenwasserstoff gereinigt und dasselbe musste schliesslich noch behufs Entfernung etwa vorhandener Spuren von Sauerstoff zwei mit alkalischer Pyrogallussäure gefüllte Waschflaschen passiren.

Das Resultat war folgendes:

Zeit	1 ccm Pyocyaneus-Enzymlösung enthielt Anthraxbacillen
Sofort nach der Aussaat	40 400
5 Stunden nach der Aussaat	200
17 Stunden nach der Aussaat	0

Dieser Versuch war unter Sauerstoffabschluss ausgeführt worden, weil auch im Thierkörper, namentlich aber im subcutanen Bindegewebe der Sauerstoff den Bakterien keineswegs so leicht zur Verfügung steht, wie bei offenem Luftzutritt. Auf diese wichtige Frage und Versuchsanordnung werden wir späterhin noch eingehender zurückkommen.

Um die Verhältnisse denen des thierischen Organismus noch ähnlicher zu gestalten, wurde bei einem zweiten Versuche die Anthraxbacillen-Aufschwemmung in Pyocyaneus-Enzymlösung bei 37° C., anstatt bei 22° C. (voriger Versuch), aufbewahrt. Gleichzeitig wurde aber auch ein Versuch mit Milzbrandbacillen-Suspension in Pyocyaneus-Enzymlösung bei Sauerstoffzutritt ausgeführt, um zu sehen, ob die Milzbrandbacillen auch unter diesen ungünstigeren Verhältnissen durch das Enzym aufgelöst werden oder nicht.

Ausserdem wurde absichtlich eine ungemein viel grössere Menge von Milzbrandbacillen in der Enzymlösung ausgesäet, als beim ersten Versuche.

Das Resultat war folgendes:

Zeit	1 ccm Pyocyaneus-Enzymlösung enthielt Anthraxbacillen	
	bei aërober Aufbewahrung	bei anaërober Aufbewahrung
15. Juni, sofort nach Aussaat	11 060 000	11 060 000
15. „ 4 Stunden nach Aussaat	nicht gezählt	2 133 000
16. „ 24 „ „ „	6 890 000	1 236 000
17. „ 48 „ „ „	nicht gezählt	920 000



(Fortsetzung.)

Zeit	1 ccm Pyocyaneus-Enzymlösung Anthraxbacillen	
	bei aërober Aufbewahrung	bei anaërober Aufbewahrung
18. Juni, 72 Stunden nach Aussaat	1 376 000	730 000
19. „ 96 „ „ „	654 000	530 000
20. „ 120 „ „ „	329 000	135 000
21. „ 144 „ „ „	0	0
22. „ 168 „ „ „	0	0

Das **End**resultat war also bei aërober und anaërober Aufbewahrung im Wesentlichen das gleiche. In den ersten 24 Stunden wurden aber bei anaërober Aufbewahrung mehr Milzbrandbacillen aufgelöst, als bei aërober.

Die grosse Verschiedenheit der beim zweiten Versuche in den einzelnen Zeitabschnitten nachgewiesenen Abnahme der Zahl der Anthraxbacillen bei beiden Arten der Aufbewahrung ist unzweifelhaft durch die Art und Weise der Vertheilung der Bacillen in der Flüssigkeit bedingt.

Zu Anfang des Versuches, d. h. in den ersten 24stündigen Zeitabschnitten, werden viel mehr Antraxbacillen vernichtet als in den späteren, weil zu Anfang die zahlreichen, als Einzelstäbchen oder freie Stäbchenketten in der Pyocyaneusflüssigkeit vertheilten Bakterien leicht und rasch durch das Enzym ausgelöst werden. Späterhin sind nur noch grössere oder kleinere Conglomerate von Bacillen, welche zum Theil sogar noch makroskopisch sichtbar waren, vorhanden, und in diesen sind die central gelagerten Bakterienzellen längere Zeit gegen das Enzym geschützt, so dass sie zunächst nicht, sondern erst später durch dasselbe aufgelöst werden.

Die obigen Versuche wurden mit einer Enzymlösung ausgeführt, welche die Pyocyanase in zu geringer Concentration enthielt. Neuere Versuche haben gezeigt, dass die bakteriolytische Wirkung der Enzymlösung durch die Art ihrer Herstellung ungemein gesteigert werden kann. Von zahlreichen bakteriolytischen Versuchen mit Pyocyanase und Milzbrandbacillen führen wir noch die folgenden an:

Aërobe Aufbewahrung bei 37° C.

Zeit	1 ccm Pyocyaneus-Enzymlösung enthielt Milzbrandbac.
Sofort nach der Aussaat	2 895 600
2 Stunden nach der Aussaat	0



Anaërobe Aufbewahrung bei 37° C.

Zeit	1 ccm Pyocyanaselösung enthielt Milzbrandbacillen
Sofort nach der Aussaat	4 320 000
5 Minuten nach der Aussaat	92 500
2 Stunden nach der Aussaat	0

Diese erstaunlich rasche und energische bakteriolytische Wirkung kann durch weitere Concentration der Pyocyanaselösung noch mehr gesteigert werden.

Nach der mikroskopischen Beobachtung eines hängenden Tropfens wird zunächst die Membran der Milzbrandbacillen theilweise aufgelöst, während die ursprüngliche Form der Stäbchen und Fäden, deren Protoplasma gekörnt erscheint, noch lange erkennbar ist. Es ist aber klar, dass nach der Auflösung der Membran Wachsthum und Vermehrung nicht mehr möglich sind. Die nach 5 bis 10 Minuten langer Einwirkung einer concentrirten Pyocyanaselösung übrig bleibenden Bacillen sind durch die Enzymwirkung sämmtlich stark geschädigt, was an der langsamen Entwickelung und dem verkümmerten Aussehen der Gelatinecolonieen deutlich erkennbar ist.

Nachdem durch diese Versuche nachgewiesen war, dass durch die Pyocyanase grosse Mengen von Milzbrandbacillen ausserhalb des Thierkörpers in vitro in kürzester Zeit aufgelöst werden, durften wir erwarten, dass auch die tödtliche Milzbrandinfection bei Versuchsthieren durch die Einführung der Pyocyanase in den Körper derselben geheilt werden könne.

Da Bouchard den Milzbrand durch die subcutane Injection von lebenden Pyocyaneusbacillen bei Kaninchen mitunter zu heilen vermochte und Wood, Woodhead[1] und Hüppe[2] ein ähnliches Resultat durch die subcutane Injection von sterilisirten Culturen des Bac. pyocyaneus erzielten, so war zu erwarten, dass durch die subcutane Injection von Enzymlösung die Heilung von mit Milzbrandbacillen inficirten Thieren noch viel leichter, sicherer und auf völlig gefahrlose Weise zu erreichen war; denn auch bei den Versuchen von Bouchard, Charrin, Wood, Woodhead und Hüppe wurde die Heilung sicherlich nur durch das in den lebenden und sterilisirten Culturen enthaltene Pyocyaneus-Enzym herbeigeführt. Dasselbe ist aber in unserer völlig keimfreien Enzymlösung in zehnfach grösserer Concentration enthalten als in den Culturen. Ausserdem ist dieselbe frei

[1] *Compt. rend. de l'Acad.* T. CIX. Nr. 26.
[2] *Berliner klin. Wochenschr.* 1889. Nr. 16.



von den Giftstoffen aus den Bakterienzellen, welche in den sterilisirten Culturen der genannten Autoren jedenfalls in grosser Menge enthalten waren und das Versuchsresultat ungünstig beeinflussten.

II. Versuche über die Heilung des Milzbrandes durch Pyocyaneus-Enzym (Pyocyanase).

Gleichzeitige Injection von Pyocyaneus-Enzym und Milzbrandbacillen (letztere subcutan).

Versuch 1. Am 26. Februar 1898 werden einem 2266 grm schweren Kaninchen (Nr. 1) 3 ccm einer von 600 ccm auf 50 ccm bei 20 bis 30° C. im Vaccuum eingedampften, dialysirten und durch Chamberlandfilter filtrirten Pyocyaneuscultur in eine Ohrvene injicirt. Gleichzeitig werden 2 Oesen voll Anthrax-Agarcultur (24 Stunden bei 36° C. gewachsen) in 1 ccm Bouillon aufgeschwemmt und $^1/_2$ ccm hiervon unter die Rückenhaut injicirt.

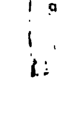
Einem 2292 grm schweren Kaninchen (Nr. 1a), vom gleichen Wurfe wie das vorige, werden zur Controle aus der gleichen Spritze ebenfalls $^1/_2$ ccm derselben Anthraxbacillen-Aufschwemmung unter die Rückenhaut zur gleichen Zeit eingespritzt.

Am 27. Februar werden dem Kaninchen Nr. 1 nochmals 5 ccm obgenannter Pyocyaneusflüssigkeit in eine Ohrvene und 3 ccm derselben subcutan am Rücken injicirt.

Am 28. Februar, früh 9 Uhr, also 43 Stunden nach der Injection, stirbt das Controlkaninchen Nr. 1a. Starkes Milzbrandödem des subcutanen Gewebes an Bauch und Brust, Milz um das Doppelte vergrössert. Im Herzblute, in der Milz, Leber, Nieren sehr viel Milzbrandbacillen. Auf einer mit einem Tropfen Blut besäeten Gelatineplatte wachsen einige 100 Anthraxbacillen-Colonieen.

Das Kaninchen Nr. 1 lässt zur gleichen Zeit keinerlei Krankheitserscheinungen erkennen; dasselbe frisst viel Brod und Grünfutter. Nicht die Spur einer Milzbrandgeschwulst (Oedem) ist vorhanden. Dasselbe erhält um 11 Uhr (28. Februar) 4 ccm obiger Pyocyanaselösung intravenös und ebenso viel subcutan am Rücken.

Aus 0·1 ccm Blut aus einer Ohrvene entwickeln sich auf zwei Gelatineplatten keine Milzbrandbacillen-Colonieen; auch mikroskopisch sind im Blute keine Milzbrandbacillen zu sehen. Nunmehr wird die Behandlung sistirt. Das Kaninchen verhält sich an den folgenden Tagen wie ein gesundes und ist auch am 18. December noch ganz gesund und wohlgenährt. Körpergewicht am 18. März 2324 grm.



Das Kaninchen ist somit durch die Pyocyaninasejection von einer schweren Milzbrandinfection, ohne irgend einen Schaden, geheilt worden. Injicirt wurden in toto 12 ccm Pyocyanaselösung intravenös und 7 ccm subcutan an 3 auf einander folgenden Tagen.

Versuch 2. Ein gelbes, 1328 grm schweres Kaninchen erhält am 25. April 1898, Nachmittags 3 Uhr, $2^1/_2$ ccm Pyocyaneusflüssigkeit (welche jedoch aus Bouillonculturen unter Zusatz von Mannit, im Uebrigen aber, wie



oben beschrieben, bereitet wurde) intravenös und 5 ccm subcutan. Unmittelbar darnach werden dem Kaninchen $1^1/_2$ ccm Milzbrandbacillen-Bouilloncultur (30 Stunden bei 36° C. gewachsen) unter die Rückenhaut injicirt.

Zu gleicher Zeit wurden einem grauen, 2410 grm schweren Kaninchen zur Controle nur 1·0 ccm der gleichen Milzbrandbacillen-Bouilloncultur unter die Rückenhaut injicirt.

Am 26. April, Vormittags 10 Uhr, beträgt die Körpertemperatur bei dem behandelten Kaninchen Nr. 2 nur 39·2° C. (normal), beim Controlkaninchen Nr. 2a aber 41·5° C.

Das behandelte Kaninchen Nr. 2, welches schon vor dem Versuche sehr mager und schwächlich war, ist ziemlich matt, weshalb von der intravenösen Infection der Pyocyaneusflüssigkeit abgesehen wird. Dasselbe erhält aber 5 ccm der Pyocyaneusflüssigkeit subcutan und Nachmittags 4 Uhr nochmals 2 ccm unter die Haut des Rückens.

Am 27. April, Vormittags 10 Uhr, hat das Controlkaninchen Nr. 2a eine mehr als nussgrosse Geschwulst an der Impfstelle des Rückens, welche sich, flacher werdend, auch über einen Theil des Bauches ausbreitet. Die Körpertemperatur ist 41·6° C.

Das behandelte gelbe Kaninchen Nr. 2 dagegen sieht frischer aus als gestern, frisst viel und die Körpertemperatur beträgt nur 39·8° C. Nicht die Spur einer Geschwulst ist zu bemerken. Dasselbe erhält um 10 Uhr $3^1/_2$ ccm Pyocyanaselösung unter die Rückenhaut.

Das Controlkaninchen Nr. 2a stirbt am 27. April, Abends, etwa 49 Stunden nach der Infection. Bei der Section findet sich eine von der Impfstelle ausgehende ödematöse Geschwulst über dem ganzen Bauch und einem Theil der Brust. Milz sehr vergrössert. Zahlreiche Milzbrandbacillen im Blute und in den Organen.

Am 28. April, früh 10 Uhr, ist das behandelte Kaninchen sehr lebhaft, frisst viel Brod und Grünfutter und hat 39·9° C. Keine Geschwulst an der Impfstelle. Es werden nun nochmals $2^1/_8$ Pyocyanaselösung subcutan injicirt und damit die Behandlung beendet.

An den folgenden Tagen verhält sich das behandelte Kaninchen Nr. 2 ebenso und am 3. Mai beträgt das Körpergewicht 1302 grm, die Körpertemperatur ist normal. Auch dieses Thier wurde also durch die Pyocyanasebehandlung von einer schweren Milzbrandinfection, welcher das viel kräftigere Controlthier innerhalb 49 Stunden erlegen ist, so geheilt, dass zu keiner Zeit unverkennbare Symptome einer Erkrankung zu beobachten waren.

Das Thier lebt auch heute, am 25. December (nach 8 Monaten), noch und ist völlig gesund, kräftig und sehr gut genährt. Subcutan waren im Ganzen 18 ccm, intravenös nur $2^1/_2$ ccm Pyocyanaselösung injicirt worden.

Versuch 3. Kaninchen Nr. 3, welches 2122 grm wiegt, erhält am 1. März 1898, Mittags 12 Uhr, 4 ccm Pyocyaneus-Enzymlösung in eine Ohrvene.

Um $2^1/_2$ Uhr Nachmittags werden demselben Thiere 0·5 ccm einer 12 ccm betragenden Bouillonprobe, in welcher 5 Oesen einer für Kaninchen sehr virulenten Anthrax-Agarcultur verrieben worden waren, subcutan injicirt.

Einem 2168 grm schweren Controlkaninchen (Nr. 3a) werden zu gleicher Zeit ebenfalls 0·5 ccm dieser Milzbrandbacillen-Aufschwemmung subcutan in-



jicirt. Gleich darauf (3 Uhr) erhält Kaninchen Nr. 3 wiederum 4 ccm Pyocyaneus-Enzymlösung intravenös und 3 ccm subcutan.

Am 3. März, Vormittags 9 Uhr, erhält dieses Kaninchen nochmals 4 ccm Pyocyaneus-Enzymlösung intravenös und 3 ccm subcutan. Bei demselben ist nicht die Spur einer Milzbrandgeschwulst an der Infectionsstelle zu bemerken, während beim Controlkaninchen Nr. 3a eine von der Infectionsstelle ausgehende, über die betreffende Bauchseite bis zur Brust ausgedehnte Infiltration des subcutanen Gewebes fühlbar ist.

Um 5 Uhr Abends, also 51 Stunden nach der Infection, stirbt das Controlthier Nr. 3a, und nun wird auch das behandelte Kaninchen Nr. 3 sofort getödtet, um durch die bakteriologische Untersuchung des Blutes und der Organgewebe festzustellen, ob noch Milzbrandbacillen vorhanden sind, oder ob dieselben durch das Pyocyaneus-Enzym bereits gelöst wurden.

Blut-, Milz-, Leber- und Nierenstückchen, sowie bohnengrosse Theile des subcutanen Gewebes von der Umgebung der Infectionsstelle wurden auf Gelatineplatten und schief erstarrte Nähragarproben zur Aussaat gebracht. Erstere wurden bei 22° C., letztere bei 37° C. aufbewahrt. Auf diesen Nährsubstraten, welche 8 Tage lang beobachtet wurden, kam keine einzige Milzbrandbacillen-Colonie zur Entwickelung. Die enorme Zahl von Milzbrandbacillen, welche durch die subcutane Injection in den Organismus gelangte, war also binnen 51 Stunden vollständig durch das Pyocyaneus-Enzym aufgelöst worden. Bei dem Controlkaninchen Nr. 3a ergab die mikroskopische Untersuchung, dass im Blute und in der Milz grosse Mengen von Milzbrandbacillen vorhanden waren.

Aus diesem Versuchsresultate glaubten wir schliessen zu dürfen, dass die Behandlung der mit Milzbrand inficirten Thiere mit Pyocyaneus-Enzym nicht so lange fortgesetzt zu werden braucht, als dies in den bisherigen Versuchen geschehen war, und dass eine ein- bis zweimalige Injection grösserer Mengen von Pyocyaneus-Enzym genügt, um auch sehr grosse Mengen von Milzbrandbacillen im Organismus aufzulösen und Heilung zu erzielen. Dass dies aber nicht so ist, zeigt der folgende Versuch, bei welchem eine enorme Menge sehr virulenter Anthraxbacillen injicirt wurde, worauf eine nur dreimalige Injection von Pyocyaneus-Enzymlösung folgte.

Versuch 4. Ein 2314 grm schweres, schwarzes Kaninchen erhält am 27. April, Nachmittags 4 Uhr, eine subcutane Injection von $1^1/_2$ ccm Anthrax-Bouilloncultur. Diese Cultur war ausserordentlich reich an Anthraxbacillen und Sporen, da 6 Stunden vorher 5 grosse Oesen einer Anthrax-Agarcultur in Bouillon gebracht worden waren und diese Bouillon bei 37° C. aufbewahrt wurde. Gleich darauf erhält dieses Kaninchen 5 ccm Pyocyaneus-Enzymlösung in eine Ohrvene und 2 ccm subcutan.

Einem anderen schwarzen, 2328 grm schweren Controlkaninchen (Nr. 4a) werden zu gleicher Zeit ebenfalls $1^1/_2$ ccm derselben Bouilloncultur subcutan injicirt.

Am 28. April, Vormittags, frisst das behandelte Kaninchen viel und verhält sich ganz normal. Das Controlkaninchen nimmt kein Futter. Um



11 Uhr werden dem ersteren 2 ccm Pyocyaneus-Enzymlösung in eine Ohrvene und 4 ccm derselben subcutan am Rücken injicirt.

Am 29. April, früh $6^1/_2$ Uhr, wird das Controlkaninchen todt gefunden. Starke Todtenstarre. Der Tod dürfte bald nach Mitternacht erfolgt sein. Dasselbe starb also schon 30 bis 35 Stunden nach der Infection. Grosse Mengen von Milzbrandbacillen im Blute und in den Organen.

Das behandelte Kaninchen frisst und ist sehr munter. Demselben werden zum letzten Male um 10 Uhr Vormittags (29. April) 1 ccm Pyocyaneusflüssigkeit intravenös und 3 ccm subcutan injicirt.

Am 30. April ist dieses Thier scheinbar normal, es frisst viel und ist munter, hat aber 40·0° C. Am 31. April beträgt die Körpertemperatur 40·5° C.

Am 1. Mai, Vormittags 10 Uhr, stirbt das nicht lange genug behandelte Kaninchen. Der Tod trat also genau nach 5 Tagen ein, während das etwas grössere Controlkaninchen schon nach 30 bis 35 Stunden verendet war.

Bei der Section fiel das Fehlen des Milzbrandödems auf. Das subcutane Gewebe der Injectionsstelle zeigte einen ätherigen, apfelähnlichen Geruch. Auf Gelatineplatten, welche mit subcutanem Gewebe beschickt waren, etwickelten sich nur wenig Milzbrandbacillen-Colonieen. Zahlreicher waren dieselben auf den mit Herzblut und Milzstückchen besäeten Platten.

Aus diesem letzten Versuche war zu schliessen, dass die Pyocyanase keine immunisirenden Wirkungen hat. Um aber hierüber mit mehr Sicherheit zu entscheiden, führten wir noch den folgenden Versuch aus, bei welchem ein Kaninchen mit Pyocyanaseinjectionen vorbehandelt und erst 11 Tage nach dieser Vorbehandlung mit Milzbrand inficirt wurde.

Versuch über die Immunisirung mit Pyocyanase gegen Anthrax.

Ein grosses, weisses, 2715 grm schweres Kaninchen erhält am 18. Juni 1898 3·5 ccm Pyocyanaselösung subcutan. Desgleichen am 20., 22., 24. und am 25. Juni 5 ccm Pyocyanase subcutan, im Ganzen also 19 ccm.

Am 3. Juli, 10 Uhr Vormittags, also 11 Tage nach der letzten Pyocyanaseinjection, wird das Kaninchen gleichzeitig mit einem ebenso grossen, 2722 grm schweren Controlkaninchen in ganz gleicher Weise durch subcutane Injection von 112 592 000 Anthraxbacillen inficirt. Diese Cultur war sehr virulent.

Am 4. Juli, Vormittags 11 Uhr, beträgt die Körpertemperatur des mit Pyocyanase vorbehandelten Kaninchens 40·7° C., während dieselbe beim Controlkaninchen nur 40·3° C. erreichte. Am 5. Juli, Vormittags 11 Uhr, ist die Körpertemperatur beim behandelten Kaninchen 41·0, beim Controlkaninchen 41·9° C. Das weisse, mit Pyocyanaseinjectionen vorbehandelte Kaninchen stirbt Abends 6 Uhr, also 56 Stunden nach der Milzbrandinfection, und um 7 Uhr, also 57 Stunden nach der Infection, stirbt das Controlkaninchen. Bei beiden Thieren finden sich bei der Section die charakteristischen Veränderungen des Milzbrandes und zahlreiche Milzbrandbacillen im Blute und in den Organen. Es ist also wohl zweifellos, dass die vor 11 bis 18 Tagen subcutan injicirte Pyocyanase wieder aus dem Thierkörper ausgeschieden oder in demselben zerstört worden war.



III. Immunisirung von Kaninchen gegen Milzbrand durch Pyocyanase-Immunproteïdin.

Der vorige Versuch zeigte uns, dass eine eigentliche Immunisirung mit Pyocyanase gegen Milzbrand wenigstens mit eben solchen Quantitäten, welche zur Heilung ausreichen, nicht möglich ist. Vielleicht wäre eine Immunisirung immerhin möglich, wenn man, wie bei Herstellung des Diphtherieserums, die Pyocyanaseinjectionen in steigenden Quantitäten Wochen oder Monate lang hindurch fortsetzen würde.

Der Umstand, dass eine gewisse kleine Quantität Pyocyanase wohl zur Heilung, aber nicht zur Immunisirung ausreicht, führte uns zur Ansicht, dass wohl der grösste Theil der Pyocyanase in den Stoffwechselprocessen des Körpers zu Grunde geht. Nur ein kleiner Theil, in eine haltbarere Form im Thiere übergehend, wird zum immunisirenden Princip. Eine solche haltbarere Form kann nach unserer Ansicht nur dadurch erzielt werden, dass die Pyocyanase sich noch mit einem anderen Eiweisskörper des Thierkörpers, wahrscheinlich von den Leukocyten stammend, zu einem hochmolecularen und trypsinfesten Eiweisskörper verbindet, welcher nicht mehr so leicht in die thierischen Zellen diosmotisch eindringen kann und daher vor dem raschen Zerfall geschützt ist.

Von grösster Wichtigkeit für die Ausführung der künstlichen Immunisirung bei Infectionskrankheiten war es, zu versuchen, ob es gelingt, diese Verbindung künstlich, also ohne Zuhülfenahme des Thierkörpers herzustellen.

Es gelingt nun in der That, nach einer von uns noch genauer zu beschreibenden, chemischen Methode eine bestimmte Menge Pyocyanase oder anderer Bakterien-Enzyme mit bestimmten thierischen Eiweisskörpern in die gewünschte hochmoleculäre Verbindung überzuführen.

Mit diesem künstlich dargestellten Enzym-Immunproteïdin, mit dessen Reindarstellung wir noch beschäftigt sind, gelingt es, Thiere durch einige Injectionen künstlich zu immunisiren, während man, wie erwähnt, durch einige Injectionen der bakteriolytischen Enzyme nur heilen, nicht aber immunisiren kann. Die Höhe der erzielten Immunität lässt nichts zu wünschen übrig; dagegen müssen über die Dauer derselben noch Versuche ausgeführt werden, da unsere bisherigen (bei Milzbrand u. s. w.) nur auf einen Zeitraum von 14 Tagen ausgedehnt wurden.

Wir lassen hier einen kurzen Bericht über die letzteren folgen.



1. Versuche über Immunisirung von Kaninchen gegen Milzbrand durch Injection der Verbindung des Pyocyaneus-Enzyms mit activem Bluteiweiss = Pyocyanase-Immunproteïdin.

Versuch 1. Am 20. Mai erhält ein grosses, 2480 grm schweres, graubraunes Kaninchen $1^1/_2$ ccm von künstlich hergestelltem Pyocyanase-Immunproteïdin, welches durch Berkefeldfilter filtrirt worden war, intravenös (Ohrvene) und 4 ccm subcutan. Am 21. und 22. Mai werden dem Thiere 6 ccm genannter Blutflüssigkeit subcutan injicirt. Am 23. Mai, Nachmittags 3 Uhr, Injection einer aus 3 Oesen Agarcultur und 10 ccm Bouillon hergestellten, sehr virulenten Milzbrandbacillen-Suspension in der Menge von 1 ccm unter die Rückenhaut und gleich darauf zum letzten Male 6 ccm Pyocyaneus-Enzymblut ebenfalls subcutan. Ein ebenso grosses, 2516 grm schweres Controlkaninchen vom gleichen Wurfe erhält die gleiche Menge Milzbrandcultur, welche vorher 5 Mal auf Kaninchen verimpft worden war, subcutan. Nun wird keine Blutflüssigkeit mehr injicirt.

Am 24. Mai fressen beide Thiere und zeigen keine Krankheitserscheinungen. Körpertemperatur beim schutzgeimpften Kaninchen 39.4° C., beim Controlkaninchen 39·7° C. Am 25. Mai, 8 Uhr früh, schutzgeimpftes Kaninchen 40·0, Controlkaninchen 41·6° C. Um 1 Uhr Nachmittags wird das Controlkaninchen todt und in starker Starre gefunden; es starb somit 40 bis 44 Stunden nach der Milzbrandinfection. Bei der Section findet sich ein starkes Milzbrandödem an Bauch und Brust und in Ausstrichpräparaten der sehr bedeutend vergrösserten Milz sind zahllose Milzbrandbacillen. Das schutzgeimpfte Kaninchen hat vom 26. Mai ab ganz normale Temperatur, frisst viel und ist sehr lebhaft; dasselbe nimmt in den folgenden Tagen an Gewicht zu und lebt auch heute noch, am 20. December, also nach 7 Monaten, in bestem Gesundheitszustande.

Die kurze Dauer und die geringe Höhe des Fiebers (nur 40·0° C. während einiger Stunden) beweisen, dass die Wirksamkeit der Schutzimpfung durch Pyocyanase-Immunproteïdin eine sehr vollkommene war, zumal auch die Fresslust und überhaupt das Allgemeinbefinden des Thieres offenbar nicht gestört waren.

Bei den folgenden Immunisirungsversuchen gegen Milzbrand vermittelst Pyocyanase-Immunproteïdin wurden die immunisirten Kaninchen erst am 5., 9. und 12. Tage nach der letzten Schutzimpfung mit Milzbrandbacillen inficirt.

Zu den drei ersten Injectionen wurde dieses Pyocyanase-Immunproteïdin ohne Zusatz irgend eines Desinfectionsmittels verwendet. Die Conservierung geschah durch Aufbewahrung bei 0 bis — 0·5° C. (Wiederholtes Gefrieren schädigte die Wirkung in keiner Weise.) Erst am 8. September, also vor der 4. Schutzimpfung, wurde Toluol zugesetzt.

Die folgende Tabelle enthält die nöthigen Angaben über die Ausführung der Schutzimpfung.



	Injicirt wurde Pyocyanase-Immunproteïdin am: 4. Sept.	6. Sept.	8. Sept.	10. Sept.	12. Sept.	Zeit u. Stärke der Infection	Resultat
Nr. 1 Kaninchen, lang- und feinhaarig. 3290 grm	2 ccm intravenös 4 ccm subcutan	6 ccm intravenös 5 ccm subcutan	2 ccm intravenös 7 ccm subcutan	7 ccm subcutan	2 ccm intravenös 6 ccm subcutan	17. Sept. Vorm. 11h 221 700 Milzbrandbac. subcutan	bleibt am Leben ohne zu erkranken.
Nr. 2 Kaninchen, graubraun 3580 grm	7 ccm intravenös 2 ccm subcutan	3 ccm intravenös 6 ccm subcutan	2 ccm intravenös 6 ccm subcutan	7 ccm subcutan	2 ccm intravenös 6 ccm subcutan	21. Sept. Nachm. 5h 280 500 Anthraxbac. subcutan	desgl.
Nr. 3 Kaninchen, braungelb 3240 grm	6 ccm intravenös 2 ccm subcutan	6 ccm intravenös 4 ccm subcutan	2 ccm intravenös 6 ccm subcutan	8 ccm subcutan	2 ccm intravenös 6 ccm subcutan	24. Sept. Vorm. 11h 228 470 Anthraxbac. subcutan	desgl.

Das Controlkaninchen zum schutzgeimpften Kaninchen Nr. 1 stammte von demselben Wurfe, wie letzteres. Dieses Controlthier hatte ein Körpergewicht von 3417 grm und erhielt zur gleichen Zeit die gleiche Anzahl von Milzbrandbacillen subcutan injicirt, und zwar wie das schutzgeimpfte Kaninchen Nr. 1 in der Menge von 0·7 ccm einer Bouillonaufschwemmung von 24 Stunden bei 37° C. gewachsener, direct aus Milz gezüchteter Agarcultur. Diese Anthraxcultur war 14 Mal in kurzen Intervallen durch den Kaninchenkörper gegangen; dieselbe war so virulent, dass, wie ein anderer Versuch zeigte, 11 500 Milzbrandbacillen den Tod eines grossen Kaninchens in 38 Stunden herbeiführten. Das schutzgeimpfte Kaninchen wurde also zum mindesten mit dem 20fachen, wahrscheinlich sogar mit dem 2000fachen der tödtlichen Dosis inficirt. Das Controlkaninchen starb schon 34 bis 36 Stunden nach der Infection mit Milzbrandbacillen. 24 Stunden nach der Infection mit Anthrax betrug die Körpertemperatur beim Controlkaninchen bereits 40·4° C., während dieselbe beim schutzgeimpften Kaninchen Nr. 1 noch normal (39·4° C.) war. Beim Controlkaninchen ist eine deutliche Milzbrandgeschwulst an der Injectionsstelle zu fühlen, während bei dem schutzgeimpften Kaninchen keine Spur einer solchen wahrnehmbar ist. Erst Abends 5 Uhr ist die Körpertemperatur des schutzgeimpften Kaninchens Nr. 1 etwas erhöht: 39·8, während die des Controlkaninchens 41·2° C. beträgt. Das letztere stirbt zwischen 8 und 12 Uhr Nachts an schwerem Milzbrand (nach dem Sectionsergebniss u. s. w.). Das schutzgeimpfte Kaninchen Nr. 1 dagegen verhält sich von nun ab ganz normal; die Körpertemperatur ist 39·3° C. Das Thier frisst viel und ist auch heute, am 29. November, völlig gesund.

Das schutzgeimpfte Kaninchen Nr. 2 (graubraun, 3580 grm Körpergewicht) wurde 9 Tage nach der letzten Schutzimpfung in genau der gleichen Weise, wie das 3894 grm schwere Controlkaninchen, mit Anthraxbacillen inficirt; jedes der Thiere erhielt 280 500 Milzbrandbacillen subcutan. Die letzteren waren



aus Milz auf Agar 24 Stunden bei 36^0 C. gezüchtet und es genügten sicherlich 100 bis 1000 Bacillen, um eine tödtliche Infection beim Kaninchen zu verursachen. 24 Stunden nach der Infection (22. September, Nachmittags 4 Uhr) ist beim Controlkaninchen ein deutliches Oedem an der Injectionsstelle wahrnehmbar und die Körpertemperatur beträgt $40 \cdot 6^0$ C. Das schutzgeimpfte Kaninchen Nr. 2 dagegen hat keine Spur einer Milzbrandgeschwulst und die Körpertemperatur ist normal ($39 \cdot 3^0$ C.).

Am 23. September, früh 8 Uhr, also 39 Stunden nach der Injection mit Anthrax, stirbt das Controlkaninchen an typischem Milzbrand.

Das schutzgeimpfte Kaninchen zeigte im Laufe der nächsten Tage keinerlei Krankheitserscheinungen, die Körpertemperatur war jeder Zeit normal und auch heute, am 29. November, ist das Thier ganz gesund und frisch, die Körpertemperatur ist normal ($39 \cdot 4^0$ C.).

Das Kaninchen Nr. 3 (braungelb), 3240^{grm} schwer, wurde erst am 24. September, Vormittags 11 Uhr, also 12 Tage nach der letzten Schutzimpfung, mit 228 470 Milzbrandbacillen durch subcutane Injection von $0 \cdot 7^{ccm}$ einer Bouillonaufschwemmung einer 24 Stunden bei 36^0 C. aus Milz gezüchteten Agarcultur inficirt. Diese Cultur war durch 15 Kaninchen hindurch geführt worden und daher ausserordentlich virulent. Höchst wahrscheinlich hätte ein einziger Milzbrandbacillus genügt, um ein Kaninchen zu tödten. Hierfür spricht auch der rasche Tod des 3642^{grm} schweren, gelben Controlkaninchens, welches mit genau der gleichen Culturmenge, aus der gleichen Spritzenfüllung und zur selben Zeit wie Kaninchen Nr. 3 mit 228 470 Milzbrandbacillen durch subcutane Injection inficirt wurde. Dieses Controlkaninchen verendete schon am 25. September, Abends 7 Uhr, also schon $31^1/_2$ Stunden nach der Infection, an schwerem Milzbrand. Das Milzbrandödem an der Impfstelle hatte kaum Zeit, sich auszubilden und war daher nur 3-Markstück gross; auch die Milz war nur wenig vergrössert. In jedem Ausstrichpräparate von Milzsaft waren aber ausserordentlich viele Milzbrandbacillen, welche sich nach der von Czaplewski[1] modificirten Gram'schen Methode fast durchweg intensiv und gleichmässig dunkelblau färbten, während roth gefärbte, todte Bacillen nicht zu sehen waren. Das schutzgeimpfte Kaninchen Nr. 3 hatte beim Tode des Controlthieres (25. September, Abends 7 Uhr) nur ganz wenig erhöhte Körpertemperatur, nämlich $39 \cdot 8^0$ C. Schon am nächsten Morgen war die Körpertemperatur wieder normal und blieb es auch bis heute (29. September, Vormittags 8 Uhr). An der Infectionsstelle ist nicht die Spur von Schwellung (Oedem) zu constatiren. Das Thier verhält sich an den folgenden Tagen, bei unverminderter Fresslust, völlig normal.

Diese Versuche zeigen, dass selbst eine Milzbrandinfection mit der mehr als 1000fachen (wahrscheinlich sogar mit der 200 000fachen) tödtlichen Dosis vollvirulenter Milzbrandbacillen vom schutzgeimpften Thierkörper leicht und gänzlich schadlos für denselben überwunden wird.

[1] *Hygienische Rundschau.* 1896. S. 1029.



Führt man die Schutzimpfung mit Pyocyanase-Immunproteïdin aus, zu dessen Bereitung, wie bei dem oben verwendeten, mehrere Wochen alte Pyocyanase benutzt wurde, dann ist auch die Schutzimpfung ohne jede schädliche Wirkung für die Thiere. Dieselben zeigen dann zu keiner Zeit auch nur die geringsten Zeichen von Unbehagen oder gar von Kranksein, da sowohl die pyogenen Proteïne, als auch die aus den Leibern der Bakterien stammenden Giftstoffe bei mehrwöchentlichem Stehen der Pyocyanaselösung durch das bakteriolytische Enzym zersetzt, d. h. in unschädliche Verbindungen übergeführt werden. Da eines der schutzgeimpften Kaninchen auch 12 Tage nach der letzten Schutzimpfung gegen die 200 000fache tödtliche Dosis von Milzbrandbacillen noch völlig immun war, so ist es höchst wahrscheinlich, dass die Immunität mindestens mehrere Wochen in solcher Höhe andauert, dass eine spontane (natürliche) Infection auch nach dieser Zeit leicht verhütet wird.

Das Impfungsverfahren mit Pyocyanase-Immunproteïdin wird sich daher voraussichtlich nicht nur zur erfolgreichen Behandlung des Milzbrandes bei Schafen, Rindvieh u. s. w., sondern auch zur Schutzimpfung dieser Thiere eignen. Jedenfalls wird man eine in einem Stalle ausgebrochene Milzbrandepidemie durch Pyocyanase-Immunproteïdin-Injectionen bei den erkrankten und noch gesunden Thieren des Stalles zum Stillstand bringen können. Auch zur Behandlung des Milzbrandes beim Menschen wird man das Pyocyanase-Immunproteïdin anwenden.

2. Schutzimpfung mit Pyocyanase-Milz-Immunproteïdin gegen Milzbrand.

Noch wirksamer und einfacher scheint die Anwendung von Pyocyanase-Immunproteïdin, welches unter Benutzung von Organeiweiss hergestellt wird, zur Schutzimpfung gegen Milzbrand zu sein.

Die vermittelst Organeiweiss hergestellten Präparate haben den grossen Vortheil, dass die Pyocyanase viel weniger stark (nahezu gar nicht) verdünnt wird, als bei der Anwendung von Blut zur Immunproteïdinbereitung.

Mit einer solchen Verbindung von Organeiweiss und Pyocyanase (Pyocyanase-Immunproteïdin) wurde ein gelbes, 3015 grm schweres Kaninchen schutzgeimpft, welches vom gleichen Wurfe stammte, wie das auf S. 22 erwähnte, 3642 grm schwere Controlkaninchen. Letzteres diente zugleich als Controlthier für diesen Versuch.

Die Schutzimpfung wurde wie folgt ausgeführt.



Das Kaninchen erhielt am

17.	September	2 ccm	intravenös
		5 „	subcutan
18.	„	8 „	„
19.	„	7 „	„
20.	„	1 „	intravenös
		4 „	subcutan
21.	„	6 „	„

Das Thier zeigte während der Schutzimpfung keinerlei Störung des Wohlbefindens, es war stets sehr lebhaft, frass viel, namentlich auch gleich nach einer Injection von Immunproteïdin, wie überhaupt zu jeder Zeit, wenn ihm Futter vorgeworfen wurde.

Am 24. September, Vormittags 11 Uhr, also 3 Tage nach der letzten Schutzimpfung, wird dieses Kaninchen gleichzeitig mit dem auf S. 22 erwähnten Kaninchen Nr. 3 und dem auch zur Controle für diesen Versuch bestimmten, gelben, 3642 grm schweren Controlkaninchen mit 228 470 Milzbrandbacillen (in 0·7 ccm Bouillon aufgeschwemmt) durch subcutane Injection inficirt. Während dieses Controlkaninchen, wie schon erwähnt, schon $31^1/_2$ Stunden (25. September, Abends 7 Uhr) nach der Infection an schwerem Milzbrand verendete, zeigte das mit Pyocyanase-Immunproteïdin schutzgeimpfte Kaninchen in der Folge nicht die geringste Störung, weder hinsichtlich der Lebhaftigkeit, noch in Bezug auf die Fresslust. Nur ganz vorübergehend war die Körpertemperatur um einige Zehntelgrade erhöht. Dieselbe betrug nämlich am 26. September, Vormittags 10 Uhr, 39·8° C., war aber vom 27. September, Vormittags 8 Uhr, an wieder völlig normal (39·3 bis 39·4° C.). Eine Veränderung an der Injectionsstelle war nie zu bemerken. Das Thier ist, trotz der Injection einer so grossen Menge höchst virulenter Milzbrandbacillen, auch heute (29. November) noch völlig gesund.

Mit derselben Verbindung der Pyocyanase mit Organeiweiss wurde am 24. October 1898 ein 3122 grm schweres, graublaues Kaninchen wie olgt schutzgeimpft.

Das Thier erhielt am

24.	October	1 ccm	intravenös
		2 „	subcutan
25.	„	2 „	intravenös
		2 „	subcutan
26.	„	6 „	„
27.	„	4 „	„
28.	„	1 „	intravenös
		4 „	subcutan.

Am 3. November, 10 Uhr Vormittags, also 6 Tage nach der letzten Schutzimpfung, werden diesem Kaninchen 562 400 Milzbrandbacillen (von einer vollvirulenten Agarcultur, die 15 Mal durch den Kaninchenkörper gegangen war) subcu an injicirt. Die gleiche Menge Milzbrandbacilleu wird zur gleichen Zeit einem 3256 grm schweren, graubraunen Kaninchen injicirt. Das letztere wird schon am 4. November, Abends 7 Uhr, also 33 Stunden nach der Infection, todt gefunden. Das schutzgeimpfte Kaninchen hatte zu dieser Zeit 39·7° C. und war frisch und munter. Dasselbe lebt heute noch (29. November 1898).

IV. Milzbrandheilung durch Injection der aus der Pyocyaneuscultur gefällten und über Schwefelsäure getrockneten Pyocyanase.

Für die praktische Verwerthung der neuen Heilmethode beim Milzbrand des Menschen und der Thiere (Rindvieh, Schafe u. s. w.), sowie eventuell bei Typhus, Pest und anderen Infectionskrankheiten, war es nothwendig, die Pyocyanase in haltbarer Form zu gewinnen. Wenn dies auch wohl durch Zusatz von entwickelungshemmenden Mitteln, wie Chloroform, Toluol u. s. w., zur Pyocyanaselösung möglich wäre, so sind Flüssigkeiten für den Versandt doch nicht so geeignet, wie eine trockene Substanz, welche leicht löslich und dosirbar ist.

Es war zunächst festzustellen, ob die gefällte und getrocknete Pyocyanase noch ihre volle Wirksamkeit besitzt.

Es zeigte sich zunächst, dass sich dieselbe schon in sehr geringen Mengen destillirten Wassers leicht und vollständig löst.

Versetzt man die Lösung in destillirtem Wasser mit schwach alkalisch gemachter Wasserstoffsuperoxydlösung, so entsteht entweder eine so ausserordentlich stürmische Sauerstoffgasentwickelung, dass ein Theil der Flüssigkeit aus dem Reagensglase herausgeschleudert wird, oder aber die Sauerstoffentwickelung ist weniger stürmisch, aber immerhin sehr lebhaft und von um so längerer Dauer.

Wenn die Ausfällung und Trocknung der Pyocyanase unter Anwendung sterilisirter Gefässe u. s. w. möglichst reinlich vollzogen wurde, so kann die Lösung in sterilisirtem Wasser direct therapeutisch verwendet werden.

Versuch 1. Am 1. December 1898, Mittags 12 Uhr, werden einem schlecht genährten, schwächlichen, graubraunen Kaninchen von nur 1216 ^{grm} Körpergewicht 5 328 000 Milzbrandbacillen, in 0·5 ^{ccm} Bouillon aufgeschwemmt, subcutan am Rücken injicirt.

Diese Milzbrandbacillen waren innerhalb einiger Monate 15 Mal durch den Kaninchenkörper gegangen und die Cultur stets in Sporenform weitergeführt worden, so dass der einmal erworbene Virulenzgrad erhalten blieb. Höchst wahrscheinlich genügte ein einziger Bacillus von dieser Cultur zur tödtlichen Infection bei Kaninchen.

Einem sehr kräftigen und gut genährten, 2 Monate hindurch im Freien gehaltenen, schwarzen Kaninchen wurden zur Controle von derselben Cultur ebenfalls 5 328 000 Milzbrandbacillen zur gleichen Zeit subcutan am Rücken injicirt.

Das ersterwähnte Kaninchen erhielt gleich nach der Milzbrandbacillen-Injection 0·5 ^{ccm} einer aus 1 ^{grm} trockener Pyocyanasemasse und 3 ^{ccm} Wasser bereiteten Lösung intravenös und $2^1/_2$ ^{ccm} subcutan. Von dieser Masse bestanden mehr als 99 Procent aus Salzen und anderen Stoffen.

Am 2. December, 10 Uhr Vormittags, hat das schwarze Controlkaninchen 41.0° C. und das mit Pyocyanase behandelte graubraune Kaninchen nur



39·7° C. Um diese Zeit werden demselben nochmals 0·5 ccm der gleich bereiteten Pyocyanaselösung intravenös und $1^1/_2$ ccm derselben subcutan injicirt.

Am 2. December, Abends zwischen 6 und 7 Uhr, also 30 bis 31 Stunden nach der Injection, stirbt das schwarze Controlkaninchen.

Bei der Section findet sich ein kleines, nur thalergrosses Milzbrandödem an der Injectionsstelle. Die Milz ist ziemlich stark vergrössert und enthält, ebenso wie das Blut, grosse Mengen von Milzbrandbacillen.

Das mit Pyocyanase behandelte, schwächliche Kaninchen lebt dagegen am 3. December, Vormittags 11 Uhr, und hat nur 39·6° C. Körpertemperatur. Dasselbe ist ganz munter und frisst Brod und Grünfutter. Es erhält nun nochmals, jedoch nur noch subcutan, 2 ccm der, wie oben erwähnt, bereiteten Pyocyanaselösung, und damit wird die Behandlung beendet. Auch am 4. December ist das Thier frisch und munter und frisst viel.

Am 9. December stirbt das Kaninchen, welches am linken Ohrgrund eine eiternde Bisswunde hatte, an Kaninchensepticämie. Bei der Section zeigen sich nicht die geringsten Spuren der Milzbrandinfection. Im Herzblute und in der Milz sind sehr viel Kaninchensepticämiebakterien, aber keine Milzbrandbacillen mikroskopisch nachweisbar; auch auf mit Milz und Blut besäeten Gelatineplatten wachsen nur Colonieen von Kaninchensepticämiebacillen. Dieser Versuch wurde in allen Details von Hrn. Prof. Dr. H. Buchner und von Hrn. Dr. Megele verfolgt.

Versuch 2. Am 5. December, Vormittags 10 Uhr, werden 3 Kaninchen, ein gelbbraunes, 3014 grm schwer, ein schwarzes, 3202 grm schwer, und ein graubraunes Controlkaninchen von 3258 grm Körpergewicht mit je 817 300 Milzbrandbacillen, welche aus der Milz des im vorigen Versuche erwähnten Controlkaninchens gezüchtet worden waren, durch subcutane Injection inficirt Das gelbbraune Kaninchen erhält 4 und das schwarze Kaninchen 5 Stunden nach der Milzbrandbacillen-Injection intravenös 0·5 ccm der, wie oben erwähnt bereiteten Lösung von trockener Pyocyanase und $1^1/_2$ ccm subcutan.

Am 6. December, Vormittags 8 Uhr, hat das Controlkaninchen 41·6, das mit Pyocyanase behandelte gelbbraune Kaninchen 39·8 und das schwarz 39·9° C. Die beiden letztgenannten Thiere erhalten nun nochmals gena ebenso wie gestern Pyocyanaseinjectionen intravenös je 0·5 ccm und sub cutan je $1^1/_2$ ccm. Abends $^3/_4$4 Uhr, also 29 Stunden nach der Milzbrand infection, stirbt das graubraune Controlkaninchen. Bei dem gelbbraune Kaninchen beträgt am 7. December Vormittags die Körpertemperatur 39· bei dem schwarzen 39·8° C. Die Pyocyanaseinjection wird nun nochma ganz ebenso wie am 6. December bei den Thieren ausgeführt.

Dieselben zeigten, eine geringe Infiltration des subcutanen Gewebes a der Injectionsstelle ausgenommen, keinerlei Krankheitserscheinungen.

Dieselben sind auch heute, am 18. December, vollkommen gesund.

Auf Grund dieser prompten Resultate konnte von weiteren Versuch mit getrockneter Pyocyanase abgesehen werden.

Der eine von uns (Emmerich) hat in Bezug auf Milzbrand-Heilversuch viele Erfahrungen zu machen Gelegenheit gehabt. Derselbe hat i Jahre 1886 als Erster gezeigt, dass es möglich ist, die Milzbrandinfection b Kaninchen durch Injectionen von Erysipel-Streptokokken, welche eine f



Kaninchen weniger gefährliche Krankheit verursachen, zu heilen; er hat dann weiterhin nach dem Vorgange Bouchard's auch Versuche über die Heilung des Milzbrandes durch Injection von Pyocyaneusbacillen, sowie auch durch Injection des Blutserums von mit Erysipelstreptokokken vorbehandelten Schafen angestellt. Die Resultate all dieser Versuche werden aber von denjenigen, welche mit gefällter, getrockneter und wieder gelöster Pyocyanase erzielt wurden, durch die absolute Sicherheit des Heilresultates weit übertroffen. Während von den Milzbrand-Heilversuchen mit Streptokokken- und Pyocyaneusculturen v. Pettenkofer mit Recht sagen konnte, „das heisst man den Teufel durch den Beelzebub austreiben," scheint die Pyocyanasebehandlung ganz unschädlich zu sein, da die Thiere während der Behandlung und trotz Einführung enormer Mengen vollvirulenter Milzbrandbacillen keinerlei hervorstechende Krankheitserscheinungen und auch keine Störung des Ernährungszustandes zeigen. Im Gegentheil, die Versuchsthiere zeichnen sich nach Durchführung der Behandlung durch grossen Appetit aus und lassen sich leicht mästen, ein Umstand, der in Bezug auf die praktische Durchführbarkeit der Heilmethode bei Schafen, Rindvieh u. s. w. sehr in's Gewicht fällt.

Keines der bis jetzt zur Heilung des Milzbrandes vorgeschlagenen Mittel lässt sich in Bezug auf die Sicherheit des Erfolges mit der vorzüglichen Wirkung der durch Fällung gereinigten und von lebensfähigen Keimen befreiten Pyocyanase vergleichen.

Wir glauben, dass wir in derselben ein rationelles Heilmittel für den Milzbrand des Menschen und der Thiere gefunden haben, welches, wenn es auch beim Menschen und den grösseren Thieren keine ungünstigen Nebenerscheinungen verursacht, alle anderen Milzbrand-Heilmittel weit übertrifft.

Charrin[1] beobachtete, dass die „Stoffwechselproducte" des Bacillus pyocyaneus bei Kaninchen eine an die spinale Epilepsie erinnernde Nervenkrankheit, ferner Albuminurie und unter der Haut auch Entzündung oder Oedem erzeugten. Die Hauptwirkung ist die Lähmung der Centren der vasomotorischen Nerven, und nach Charrin und Gley[2] sind es besonders die flüchtigen Stoffwechselproducte des Bac. pyocyaneus, welche diese specielle Wirkung äussern.

Dass diese letzterwähnte, sehr bedenkliche Wirkung bei der intravenösen und subcutanen Injection unserer Pyocyanase oder des Pyocyanase-Immunproteïdins niemals eintrat, wäre also damit zu erklären, dass beim Eindampfen der Pyocyaneusculturen im Vacuum diese flüchtigen, deletären

[1] *Compt rend. de la soc. de Biol.* 1891, 1893 und 1895.

[2] *Ebenda.* 1891.



Producte ganz oder doch grösstentheils abdestillirt und entfernt werden. In der That hat das Destillat den so charakteristischen Jasmingeruch der Pyocyaneusculturen in hohem Maasse, während die im Vacuum concentrirte Pyocyanaselösung kaum mehr aromatisch, sondern leimartig riecht. Aber auch keine der übrigen, von Charrin geschilderten Erscheinungen, wie nervöse Störungen, Albuminurie u. s. w., sind von uns bei der intravenösen und subcutanen Injection sehr grosser Mengen der Pyocyanaselösung beobachtet worden. Es ist somit wahrscheinlich, dass die giftigen Producte, welche jene Störungen hervorrufen, bei der Dialyse der im Vacuum concentrirten Culturen entfernt wurden, so dass unsere Pyocyanaselösung als giftfrei zu bezeichnen wäre.

Wenn man bedenkt, dass wir einzelnen Kaninchen auf einmal 5 ccm Pyocyanaselösung intravenös und ebenso viel subcutan injicirten und dass die in mehreren auf einander folgenden Tagen injicirte Gesammtmenge der Pyocyanaselösung bis zu 30 ccm betrug, ohne dass ernstliche Krankheitserscheinungen auftraten, so kann von einer Giftwirkung kaum die Rede sein.

Im Gegensatz zu den „Stoffwechselproducten" der meisten anderen pathogenen Bakterienarten sind diejenigen des Bac. pyocyaneus bei subcutaner Injection gefährlicher, als bei intravenöser, und die Kaninchen sterben nach ersterer früherer als nach letzterer. Charrin beobachtete, dass die Thiere manchmal sehr spät, einmal eines erst nach 4 Monaten durch Degeneration der Leber starben. Derartiges konnten wir nach der Pyocyanaseinjection ebenfalls nicht beobachten. Es sind noch jetzt einige unserer Kaninchen in bestem Gesundheitszustande am Leben, welche vor 8 Monaten durch Pyocyanaseinjectionen von tödtlichen Milzbrandinfectionen geheilt wurden. Es dürfte übrigens schwer festzustellen sein, ob Charrin's so spät eingegangene Kaninchen wirklich in Folge der Injection von Stoffwechselproducten des Bac. pyocyaneus oder durch andere Ursachen verendet sind.

Wir konnten im Allgemeinen nur eine, allerdings sehr heftige Wirkung der subcutanen Injection von Pyocyanase- oder von Pyocyanase-Immunproteïdinlösung constatiren, nämlich eine von der Injectionsstelle ausgehende Eiterbildung, welche in einigen Fällen eine ganz bedeutende Ausdehnung erreichte. Diese Eiterung war aber nur dann zu beobachten, wenn die zur Herstellung der Pyocyanase- oder Pyocyanase-Immunproteïdinlösung verwendeten, im Vacuum concentrirten Pyocyaneusculturen nicht durch Berkefeld- oder Chamberlandfilter filtrirt worden waren. Die profuse Eiterung war in diesem Falle offenbar durch die Proteïne der massenhaft injicirten Bakterienzellen verursacht, welche, durch Toluol abgetödtet, im subcutanen Gewebe aufgelöst wurden und so ihre pyogenen Wirkungen



entfalten konnten. Auch nach Charrin sind die Toxine hauptsächlich in den Bacillen selbst enthalten und er beobachtete nach der Injection der todten Bacillen viel intensivere Veränderungen, als nach der Injection der „Stoffwechselproducte".

V. Auflösung von anderen Bakterienarten durch das Pyocyaneus-Enzym in vitro.

Freudenreich[1] hatte schon im Jahre 1889 beobachtet, dass die Culturen des Pyocyaneus das Wachsthum anderer Mikroben, z. B. Typhus- und Cholerabacillen, ungünstig beeinflussten. Er stellte aber keine quantitativen Untersuchungen über Abtödtung dieser Bakterien an. Weiterhin hat, wie schon erwähnt, Rumpf[2] den Typhus abdominalis durch Injection von abgetödteten Pyocyaneusculturen günstig beeinflussen können.

Es lag daher nahe, zunächst Versuche über den lösenden Einfluss der Pyocyanase auf Typhusbacillen anzustellen. Beim ersten Versuche wurden 153 000 000 Typhusbacillen von einer 24stündigen Agarcultur pro 1 ccm Pyocyanaselösung ausgesäet und letztere, welche aus 6 ccm bestand, in zwei Theile, einen aëroben und einen anaëroben, getheilt, welche beide bei 37° C. aufbewahrt wurden. Während in der aëroben Probe nach 24 Stunden eine bedeutende Vermehrung der Typhusbacillen zu constatiren war, ergab die Zählung bei der anaërob aufbewahrten Probe nach 24 Stunden die Zahl 154 880 000 pro 1 ccm Pyocyanaselösung, so dass also weder Vermehrung, noch Abnahme eingetreten war. Ein wesentlich verschiedenes Resultat lieferte aber der nächste Versuch, bei welchem einerseits eine andere Cultur des Bac. pyocyaneus Verwendung fand und andererseits die Aussat eine weit geringere war.

Auflösung von Typhusbacillen in Pyocyanaselösung.

Datum	a) Aërobe Aufbewahrung	b) Anaërobe Aufbewahrung
	1 ccm Pyocyanaselösung enthält Typhusbacillen	1 ccm Pyocyanaselösung enthält Typhusbacillen
25. Juli sofort nach Aussaat	29 040 000	29 040 000
27. Juli nach 48 Stunden bei 37° C.	4 710 000	172 350
28. Juli nach 72 Stunden bei 37° C.	0	0

[1] Baumgarten's *Jahresbericht.* 1889.
[2] *Jahrbücher der Hamburger Staatskrankenanstalten.* 1896. Bd. IV.



Versuche, welche neuerdings angestellt wurden, ergaben noch wesentlich günstigere Resultate, was auf die Verbesserung der Methode der Enzymdarstellung zurückzuführen ist.

Auf Grund dieser Resultate können wir wohl die Erfolge Rumpf's verstehen. Kraus und Busweil[1] sowohl, als auch Presser[2] haben allerdings bei ihren Heilversuchen an Typhuskranken mit abgetödteten Culturen des Pyocyaneus und Presser auch bei Injectionen von abgetödteten Culturen des Typhusbacillus selbst angeblich keine Erfolge erzielt.

Da alle diese Autoren die nicht concentrirten, weder durch Dialyse gereinigten, noch filtrirten Pyocyaneusculturen anwendeten und andererseits grosse Unterschiede in der Enzymbildung bei verschiedenen Varietäten des Pyocyaneus nach unseren Erfahrungen zu beobachten sind, so glauben wir, dass die negativen Resultate von Kraus, Busweil und Presser bedeutungslos sind. Rumpf's positive Ergebnisse aber und unsere obigen Zahlen, welche eine so energische, auflösende Wirkung der Pyocyanase auf Typhusbacillen ergeben, lassen die Hoffnung als berechtigt erscheinen, dass eine neue und erfolgreiche Behandlung des Typhus mit der gereinigten und concentrirten Pyocyanase möglich sein und bald praktische Anwendung finden wird.

Besondere Beachtung verdient die Thatsache, dass die Pyocyanase bei anaërober Aufbewahrung Typhusbacillen viel rascher abtödtet, als bei aërober. Im thierischen und menschlichen Organismus wird daher die Wirkung der Pyocyanase auf die pathogenen Bakterien viel energischer sein, als in vitro, zumal in ersteren auch noch die Vertheilung der Bakterienconglomerate und -Verbände durch den Blutstrom zu Einzelzellen, sowie in der Bauchhöhle die Wirkung der Darmperistaltik im gleichen Sinne und andere, die Abtödtung begünstigende Momente hinzukommen.

Unsere nächsten Versuche galten dem Verhalten der Cholerabacillen in Pyocyanase:

Datum	Aërob	Anaërob
	1 ccm Pyocyanaselösung enthält Cholerabacillen	
15. Juni sofort nach Aussaat	132 160 000	132 160 000
16. „ nach 24 Std. bei 37°C.	44 373 000	11 300 000
17. „ „ 48 „ „	war 24 Std. bei Zimmertemp.	1 663 000
18. „ „ 72 „ „	49 540 000	757 000
19. „ „ 96 „ „		172 090

[1] *Wiener klin. Wochenschrift.* 1894.
[2] *Zeitschrift für Heilkunde.* 1895. Bd. XVI.



Dieses Resultat beweist wieder den grossen Unterschied bei aërober und anaërober Behandlung. Die zum obigen Versuche verwendete Pyocyanaselösung war nach einer noch sehr unvollkommenen Methode gewonnen. Es ist bestimmt anzunehmen, dass die neuerdings von uns hergestellte Enzymlösung viel energischere Wirkungen entfaltet. Eine ganz eminente auflösende Wirkung zeigte die Pyocyanase für Diphtheriebacillen.

Diphtheriebacillen von sehr virulenter Zuckerserumcultur wurden in 6 ccm Pyocyanaselösung ausgesäet und die Hälfte aërob, die andere anaërob bei 37° C. aufbewahrt. Das Resultat der Zählung durch Aussaat abgemessener Mengen auf schief erstarrtes Zuckerserum war folgendes:

1. Versuch.

Datum	Aërob	Anaërob
	1 ccm Pyocyanaselösung enthält Diphtheriebacillen	1 ccm Pyocyanaselösung enthält Diphtheriebacillen
25. Juli sofort nach Aussaat	2 600 000	2 600 000
28. Juli nach 72 Std. bei 37°C.	0	0

Mit einer Pyocyanaselösung, welche vermittelst einer anderen Varietät des Bac. pyocyaneus gewonnen war, wurde noch folgender Versuch ausgeführt.

2. Versuch.

Datum	Aërob	Anaërob
	1 ccm Pyocyanaselösung enthält Diphtheriebacillen	1 ccm Pyocyanaselösung enthält Diphtheriebacillen
15. Juni sofort nach Aussaat	20 100 000	20 100 000
16. „ nach 24 Std. bei 37°C.	1 800 000	920 000
17. „ „ 48 „ „	nicht gezählt	105 417
18. „ „ 72 „ „	500	500
19. „ „ 96 „ „	0	0

Gegenwärtig verfügen wir, wie erwähnt, über eine viel wirksamere Pyocyanaselösung, deren bakteriolytischer Effect auch den Typhusbacillen gegenüber viel bedeutender sein wird, als er sich in den obigen Zahlen ausspricht.

Zum Beweise hierfür theilen wir mit, dass wir bei unserer ersten, schon vor Jahresfrist bereiteten Pyocyanaselösung keinen bakteriolytischen Effect bei allerdings sehr reichlicher Aussaat von Staphylococcus pyo-



genes aureus in dieselbe beobachteten. Mit der unter Anwendung geeigneterer Culturen und nach verbesserter Methode neuerdings von uns hergestellten Pyocyanaselösung erzielten wir dagegen auch bei Staphylococcus pyogenes aureus so energische bakteriolytische Wirkungen, dass die Möglichkeit einer erfolgreichen Behandlung der zahlreichen, durch diesen Mikroorganismus verursachten Krankheiten, insbesondere auch der Pyämie, zugegeben werden muss.

Bei dem folgenden Versuche wurden unmittelbar vorher aus Panaritiumeiter gezüchtete Staphylokokken verwendet.

Datum	1 ccm Pyocyanaselösung enthielt Staphylokokken
2. December sofort nach der Aussaat	23 250 000
3. „ nach 24 Stunden (bei 37° C.)	0

Die Wiederholung dieses Versuches ergab das gleiche Resultat.

Datum	1 ccm Pyocyanaselösung enthielt Staphylokokken
5. December sofort nach der Aussaat	12 680 500
6. „ 24 Stunden nach der Aussaat	0

Ein dritter Versuch mit Staphylokokken und Pyocyaneus-Enzym hatte ebenfalls ein sehr günstiges Resultat.

Datum	1 ccm Pyocyanaselösung enthielt Staphylokokken
6. December sofort nach der Aussaat	31 100 000
6. „ 6 Std. n. d. Aussaat (37° C.)	11 800 000
8. „ 36 „ „ „	0

Auch die Pestbacillen werden in kurzer Zeit von der Pyocyanase vernichtet und aufgelöst. Die betreffende Cultur war 2 Monate, bevor ich in den Besitz derselben gelangte, von Bombay nach Paris geschickt worden und als vollvirulent bezeichnet. Die Entwickelung auf Agar-Agar und in Bouillon war üppig und namentlich in letzterer charakteristisch. Eine kleine Menge 24 Stunden alter Agarcultur wurde direct in der Pyocyanaselösung möglichst gut verrieben und zu folgenden Versuchen verwendet. Die Suspension der Pestbacillen in Pyocyanaselösung wurde bei 37° C. gehalten.



Datum	1 ccm Pyocyanaselösung enthielt Pestbacillen
25. October sofort nach der Aussaat	5 685 200
25. „ 5 Std. n. d. Aussaat bei 37° C.	0

Ein zweiter Zählversuch ergab ein noch günstigeres Resultat:

Datum	1 ccm Pyocyanaselösung enthielt Pestbacillen
28. October sofort nach der Aussaat	27 120 000
28. „ 6 Stunden nach der Aussaat	0

Die Pestbacillen werden also ebenso rasch und in ebenso grosser Zahl durch die Pyocyanase aufgelöst, wie die Milzbrandbacillen. Es ist daher bestimmt zu erwarten, dass sich auch die Pestinfection bei Thieren durch Pyocyanaseinjectionen ebenso prompt und sicher coupiren lässt, wie dies bei der Milzbrandinfection der Fall ist. Wenn in Indien auszuführende Versuche dieses Resultat ergeben, so wird man die Pyocyanase auch als Heilmittel bei der menschlichen Pest versuchen müssen.

Schutzimpfung gegen Diphtherie vermittelst Pyocyanase-Immunproteïdin.

Wir konnten bis jetzt bei der Fülle anderer Arbeiten nur einige orientirende Versuche an Meerschweinchen über die Schutzwirkung von Pyocyanase-Immunproteïdin bei Diphtherie ausführen. 6 Meerschweinchen erhielten im Verlaufe von 8 Tagen 6 subcutane Injectionen von Pyocyanase-Immunproteïdin. Einen Tag nach der letzten Schutzimpfung wurden dieselben mit der 10- bis 20fach tödtlichen Dosis einer sehr virulenten Diphtheriebouilloncultur (von welcher 0·15 ccm bei subcutaner Injection in 36 Stunden tödtlich wirkten) durch subcutane Injectionen am Bauche inficirt.

Von diesen 6 Thieren blieben 2 am Leben. 3 der behandelten Thiere überlebten die beiden Controlthiere um mindestens 24 Stunden, ein Thier um 4 Tage. Weitere Versuche mit verbesserten und wirksameren Pyocyanasepräparaten müssen zeigen, ob das Pyocyanase-Immunproteïdin zur Heil- und Schutzimpfung bei der Diphtherie des Menschen empfehlenswerth erscheint oder nicht. Es wäre aber mit Rücksicht auf die Diphtheriebacillen lösende Wirkung der Pyocyanase jetzt schon angezeigt, zu versuchen, ob die Heilwirkung des Behring'schen Heilserums durch Bepinselung der diphtheritischen Schleimhaut mit Pyocyanaselösung oder durch Inhalation der letzteren unterstützt werden kann. Wir glauben



um so mehr, dass die Pyocyanase auch bei Diphtherie therapeutische Verwerthung finden wird, weil dieselbe, wie in einem späteren Capitel gezeigt wird, auch das Diphtherietoxin zersetzt, bezw. im thierischen Körper unwirksam macht.

Heil- und Schutzimpfung mit Rothlauf-Enzym-Immunproteïdin beim Rothlauf der Schweine.

Wir haben bereits in der Einleitung zu dieser Abhandlung erwähnt, dass auch die Schweine-Rothlaufbacillen in Flüssigkeitsculturen ein Enzym bilden, welches die Rothlaufbacillen aufzulösen im Stande ist.

Es ist in hohem Grade wahrscheinlich, dass es nach der Reindarstellung des Rothlaufbacillen-Enzyms möglich sein wird, den Rothlauf der Schweine durch Enzyminjectionen erfolgreich zu behandeln und eine wirksamere Schutzimpfung gegen diese verheerende Seuche auszubilden, als es die bisherige ist. Die folgenden Versuche wurden mit einem Rothlaufbacillen-Enzym-Immunproteïdin ausgeführt, welches zu einer Zeit hergestellt wurde, in welcher die Methode der Gewinnung bakteriolytischer Enzyme noch wenig ausgebildet war. Nichtsdestoweniger lässt sich ein theilweiser Erfolg dieser neuen Schutzimpfungsmethode nicht verkennen. Ausserdem war die Menge der Rothlaufbacillen, welche den schutzgeimpften Thieren injicirt wurde, eine enorm grosse und die Virulenz der Bacillen war jedenfalls die höchst mögliche, da dieselben einen Tag vor Ausführung der Infection durch directe Uebertragung von Milzsaft eines an sehr acutem Rothlauf verendeten Schweines in Nährbouillon gezüchtet worden waren.

In der folgenden Tabelle sind die Mengen des behufs Schutzimpfung injicirten Rothlauf-Enzym-Immunproteïdins angegeben.

	13. Juli	14. Juli	15. Juli	16. Juli	17. Juli	18. Juli	Resultat der Infection
1. Kaninchen, graublau 2910 grm	7 ccm subcutan	5 ccm subcutan	5 ccm subcutan	8 ccm subcutan	7 ccm subcutan	8 ccm subcutan	† 31. Juli Nachts 10h
2. Kaninchen, graublau 2930 grm	„	„	„	„	„	„	† 31. Juli Nachts 10-12
3. Kaninchen, graubraun 3108 grm	„	7 ccm subcutan	6 ccm subcutan	„	„	„	† 2. August Vorm. 10h
4. Kaninchen, gelbbraun 2980 grm	5 ccm subcutan	4 ccm subcutan	5 ccm subcutan	„	„	„	bleibt leben
5. Kaninchen, braun 3085 grm	„	3 ccm subcutan	„	6 ccm subcutan	„	„	bleibt leben
6. Controlkan., 3538 grm							† 31. Juli Vorm. 9h



Die 5 schutzgeimpften Kaninchen und das Controlkaninchen wurden am 28. Juni, Vormittags 11 Uhr, also 10 Tage nach der letzten Schutzimpfung, durch intravenöse Injection von je 1 ^{ccm} 24 Stunden bei 36° C. gezüchteter Bouilloncultur inficirt.

Dieselben hatten am nächsten Tage sämmtlich hohes Fieber (40·6 bis 41·9° C.).

Das Controlthier starb nach 70 Stunden, das schutzgeimpfte Kaninchen Nr. 1 nach 83, das Kaninchen Nr. 2 nach ca. 85 Stunden, während das Kaninchen Nr. 3 erst am 5. Tage nach der Infection verendete und Kaninchen Nr. 4 und Nr. 5 noch heute (29. September) am Leben sind.

VI. Bakteriolytische Wirkung der Immunsera in vitro.

Gegenwärtig herrscht allgemein die Ansicht, dass die Immunsera unfähig seien, die zugehörigen Bakterien in vitro zu tödten. Und man nahm deshalb Zuflucht zu den gezwungensten Annahmen, die immunisirende Wirkung im Thiere zu erklären. So soll nach Buttersack[1] „die erworbene Immunität als eine Art von Uebung der einzelnen Zellgattungen und des Auslösungsapparates“ aufzufassen sein. In ähnlicher Weise spricht sich Dollar[2] aus. Wassermann[3] äussert sich wie folgt: „Wir sehen also, dass die experimentell bewiesene Ansicht von der Abspaltung der bactericid wirkenden Stoffe aus dem Immunserum durch Vermittelung des lebenden Organismus auch heute noch unwiderlegt ist.“ Ferner meint er: „Das Pyocyaneus-Immunserum wirkt im Reagensglase durchaus nicht stärker abtödtend auf die Pyocyaneusbacillen, wie das Serum normaler Thiere.“[4]

Es kann wohl kein Zweifel mehr herrschen, dass auch R. Pfeiffer's den bekannten Thatsachen in geistreicher Weise Rechnung tragende Ansicht, dass mit der Uebertragung von Immunserum lediglich Substanzen dem Thierkörper einverleibt werden, welche „durch eine Umstimmung denselben befähigen, sich der eingedrungenen Mikroben zu entledigen“,[5] nicht mit den im Folgenden mitgetheilten Versuchsergebnissen in Uebereinstimmung gebracht werden kann. Es wird vielmehr in der That eine stark bactericide, bakteriolytische Substanz mit dem Immunserum direct übertragen. Der Grund aber, warum im Thiere diese Substanz schein-

[1] Virchow's *Archiv*. 1895. Bd. CXLII. S. 248.
[2] *Veterinarian*. T. LXVIII. p. 83.
[3] *Diese Zeitschrift*. Bd. XXII. S. 306 u. 307.
[4] Wassermann befindet sich hier im Widerspruch zu Roger.
[5] *Deutsche med. Wochenschrift*. 1896.



bar weit mehr Effect äussert als in vitro, ist offenbar in erster Linie der, dass die bisherigen Versuche in vitro bei vollem Luftzutritt ausgeführt wurden, der Sauerstoff im Blute aber, zwar nur locker, jedoch immerhin an das Hämoglobin gebunden und den Bakterien (besonders noch im subcutanen Bindegewebe) weit weniger zugänglich ist, als der freie moleculare Sauerstoff der Luft, mittels dessen die Bakterien bis zu einem gewissen Grade das eindringende Gift zerstören können. Noch weniger Sauerstoff steht den Bakterien im subcutanen Gewebe u. s. w. zur Verfügung. Viel kommt hier auch auf die relative Concentration der baktericiden Substanz an. Unsere Versuche ergaben, wie aus dem Folgenden ersichtlich, dass die baktericide Wirkung des Cholera- und Typhus-Immunserums anaërob auch in vitro stets und leicht eintritt. — Ein anderer Umstand aber, der im Thiere günstig wirkt, ist die stetige Bewegung des Blutes, die Bacillen kommen so in immer erneuertem Contact mit frischer baktericider Substanz und müssen so eher erliegen, als wenn sie ruhig am Boden eines Glasgefässes liegen und einander theilweise sogar durch Klümpchenbildung (Agglutination) gegen den Zutritt der Flüssigkeit schützen können.

1. Versuche über die Cholerabacillen lösende Wirkung von Meerschweinchen-Immunserum bei aërober und anaërober Behandlung.

Versuch 1. Ein nahezu erwachsenes Meerschweinchen (Nr. 1) erhält am 27. Juni 0·3 ccm Cholerabacillen-Bouilloncultur (aus Thorgau stammend) subcutan.[1] Am 28. Juni 5 ccm derselben Cultur (24 Stunden alt) subcutan. Am 2. Juli erhält das Thier 2 ccm einer 3 Tage bei 24° C. gewachsenen Cholerabacillen-Bouilloncultur mit 1 Oese Agarcultur subcutan. Am 11. Juli von eben solcher Cultur, in der aber noch 6 grosse Oesen Agarcultur verrieben wurden, 5 ccm subcutan. Am 16. Juli $3^1/_2$ ccm einer 24 Stunden bei 37° C. gewachsenen, 10 ccm betragenden Cholerabacillen-Bouilloncultur, in welche aber noch zwei ganze Agarculturen (schief erstarrt mit grosser Oberfläche) verrieben worden waren, subcutan.

Am 19. Juli wurde das Meerschweinchen unter allen Vorsichtsmaassregeln (Rasiren der Haut am Halse, Sublimat-Alkoholwaschung und gründliches Abspülen mit sterilisirtem Wasser, Abtrocknen mit sterilisirter Watte u. s. w.) verbluten gelassen und nach dem Absetzen des Serums (in Eis) am 20. Juli in 4 ccm des Serums eine kleine Menge einer 48 Stunden bei 25° C. gewachsenen Agarcultur von Cholerabacillen (Thorgau) gut verrieben und vermischt. Nun wurden sofort 1 und 6 Oesen dieser Serumbacillen-Suspension in Gelatine und Petrischalen ausgesät und alsdann diese

[1] 0·2 ccm dieser Cultur genügten, um ein gleich grosses Meerschweinchen bei intraperitonealer Injection zu tödten.



Serummenge in zwei genau gleiche Hälften getheilt, von denen die eine bei Luftzutritt, die andere in Wasserstoffatmosphäre, wie oben auf. S. 11 beschrieben, bei 37° C. aufbewahrt wurden. Nach 24 Stunden wurden wiederum mit 1 und 6 Oesen (geaichte Oesen) Zählgelatineplatten gegossen. Das Resultat war folgendes:

a) Aërobe Aufbewahrung.

Datum	Zahl der Cholerabacillen pro 1 ccm Serum
20. Juli sofort nach der Aussaat . . .	29 520 000
21. „ nach 24stünd. Stehen bei 37° C.	0

b) Anaërobe Aufbewahrung.

Datum	Zahl der Cholerabacillen pro 1 ccm Serum
20. Juli sofort nach der Aussaat . . .	29 520 000
21. „ nach 24stünd. Stehen bei 37° C.	0

Versuch 2. Ein ganz ebenso und zur gleichen Zeit wie das vorige gegen Cholerabacillen immunisirtes, nahezu erwachsenes, 502 grm schweres Meerschweinchen (Nr. 2) wurde am 21. Juli verbluten gelassen. Am 23. Juli wurde der folgende Versuch genau so wie der vorausgehend beschriebene zur quantitativen Beurtheilung der Cholerabacillen lösenden Wirkung des Immunserums unter aëroben und anaëroben Bedingungen ausgeführt.

a) Aërobe Aufbewahrung.

Datum	Zahl der Cholerabacillen pro 1 ccm Serum
23. Juli sofort nach der Aussaat . . .	3 864 000
24. „ nach 24stünd. Stehen bei 37° C.	0

b) Anaërobe Aufbewahrung.

Datum	Zahl der Cholerabacillen pro 1 ccm Serum
23. Juli sofort nach der Aussaat . . .	3 864 000
24. „ nach 24stünd. Stehen bei 37° C.	0

Es braucht wohl nicht bemerkt zu werden, dass in diesen beiden Versuchen die Erscheinungen der Agglutination in bekannter Weise zu beobachten waren.

Da nun bekanntlich die Immunsera bei Typhus und Cholera auch bei der Verdünnung mit Bouillon im Verhältnisse von 1:20, 1:40 u. s. w. noch sehr schöne Agglutination zeigen, so suchten wir zu entscheiden, ob auch unter diesen Bedingungen, bei welchen den Bacillen reichliche Mengen geeigneten Nährmateriales zur Verfügung stehen, nicht nur

Agglutination, sondern völlige Vernichtung und Auflösung einer grösseren oder geringeren Anzahl der ausgesäten Bakterien eintritt. Dies musste eintreten, wenn, unserer Ansicht entsprechend, die Agglutination und die künstliche Immunität auf der Wirkung eines Enzyms beruht. Da hierbei selbstverständlich quantitative Beziehungen zwischen der Menge des vorhandenen Enzyms und der agglutinirenden und Bakterien lösenden Wirkung desselben, sowie der Zahl der Bakterien vorausgesetzt werden müssen, so haben wir auch bei diesen Versuchen Bakterienzählungen in genau bestimmten Zeitabschnitten ausgeführt.

Cholera-Immunserum vom Meerschweinchen Nr. 1 wurde im Verhältnisse von 1:20 mit Bouillon vermischt, eine kleine Menge 24 Stunden bei 37° C. gewachsener Agarcultur von Cholerabacillen (aus Thorgau) darin verrieben und die aus 4 ^{ccm} bestehende Probe in zwei genau gleiche Hälften getheilt, von denen die eine in der beschriebenen Weise in Wassertoffatmosphäre, die andere unter Watteverschluss im Reagensglase bei 37° C. aufbewahrt wurde.

Das Zählresultat war folgendes:

Immunserum + Bouillon 1:20. 1. Aërobe Aufbewahrung.

Datum	1 ^{ccm} Immunserum + Bouillon 1:20 enthält Cholerabacillen
20. Juli sofort nach Aussaat d. Cholerabac.	3 060 000
21. „ nach 24 Stunden bei 37° C.	60 384 000

Immunserum + Bouillon 1:20. 2. Anaërobe Aufbewahrung.

Datum	1 ^{ccm} Immunserum + Bouillon 1:20 enthält Cholerabacillen
20. Juli sofort nach Aussaat d. Cholerabac.	8 060 000
21. „ nach 24 Stunden bei 37° C.	4 145 000 [1]

Auch das Immunserum von dem in gleicher Weise wie das vorige, gegen Cholera immunisirten Meerschweinchen (Nr. 2) wurde mit Bouillon 1:20 vermischt und, wie soeben beschrieben, weiter verfahren.

Das Zählresultat war:

Cholera-Immunserum + Bouillon 1:20. 1. Aërobe Aufbewahrung.

Datum	1 ^{ccm} Immunserum + Bouillon 1:20 enthält Cholerabacillen
23. Juli sofort nach Aussaat d. Cholerabac.	17 002 000
24. „ nach 24 Stunden bei 37° C.	unzählig! [2]

[1] Bei dieser Probe war der Stöpsel undicht geworden, so dass in den letzten Stunden des Versuches Luft zutreten konnte.

[2] Starke Trübung der Bouillon u. Bildung einer dicken Haut auf der Oberfläche.

Cholera-Immunserum + Bouillon 1:20. 2. Anaërobe Aufbewahrung.

Datum	1 ccm Immunserum + Bouillon 1 : 20 enthält Cholerabacillen	
23. Juli sofort nach Aussaat d. Cholerabac.	17 002 000	
24. „ nach 24 Stunden bei 37° C.	1 440 000	
25. „ „ 48 „ „	928 800	
26. „ „ 72 „ „	421 300	
28. „ „ 112 „ „	0	völlige Lösung

Ausser diesen wurden noch die folgenden Versuche in gleicher Weise ausgeführt.

Versuch 3. Meerschweinchen Nr. 3 wird immunisirt, indem demselben am 20. April 1 ccm Bouillon mit 0·1 mg Agarcultur von Cholerabacillen (aus Berlin) subcutan injicirt wurden.[1]

Am 1. Mai werden 2 Oesen
„ 8. „ „ 5 „
„ 16. „ „ 10 „
„ 25. „ „ 15 „
} Agarcultur subcutan injicirt

und dazu noch 2 ccm Bouilloncultur (2 Tage bei 37° C. gewachsen).

Am 1. Juni wird dann schliesslich noch eine ganze schief erstarrte Agarcultur intraperitoneal injicirt und das Thier am 6. Juni verbluten gelassen.

Mit dem im Eisschranke abgesetzten Serum werden folgende Versuche ausgeführt.

1. Cholera-Immunserum unverdünnt.

a) Aërobe Aufbewahrung.

Datum	Zahl der Cholerabacillen pro 1 ccm Serum
8. Juni sofort nach Zusatz der Cholerabac.	12 900 000
9. „ nach 24 Stunden bei 37° C. . .	90 100 000

b) Anaërobe Aufbewahrung.

Datum	Zahl der Cholerabacillen pro 1 ccm Serum
8. Juni sofort nach Aussaat d. Cholerabac.	12 900 000
9. „ nach 24 Stunden bei 37° C.	560 000
10. „ „ 48 „ „	0

[1] 0·02 grm einer solchen Agarcultur, peritoneal injicirt, tödten ein gleich grosses Meerschweinchen in etwa 30 Stunden. — Bei den Resultaten der vorausgehenden und folgenden Versuche muss berücksichtigt werden, dass nach R. Pfeiffer (*Centralblatt für Bakteriologie*, Abth. I, Bd. XIX, S. 593) virulente Culturen von Cholerabacillen durch die specifischen Choleraantikörper, d. h. das Cholerase-Immunproteïdin erheblich weniger beeinflusst werden als avirulente. Das Resultat des bakteriolytischen Versuches mit Immunserum wird also sehr verschieden sein, je nach dem Grade der Virulenz der verwendeten Cholerabacillen-Culturen.



Zur Controle wurde der vorige Versuch mit dem gleichen Serum wiederholt und folgendes Resultat erhalten:

Unverdünntes Cholera-Immunserum.

a) Aërobe Aufbewahrung.

Datum	Zahl der Cholerabacillen pro 1 ccm Serum
9. Juni sofort nach Zusatz d. Cholerabac.	19 200 000
10. „ nach 24 Stunden bei 37° C.	72 000 000

b) Anaërobe Aufbewahrung.

Datum	Zahl der Cholerabacillen pro 1 ccm Serum
9. Juni sofort nach Zusatz d. Cholerabac.	19 200 000
11. „ nach 48 Stunden bei 37° C.	0

Eine Wiederholung des Versuches mit dem gleichen Serum ergab bei anaërober Aufbewahrung:

Datum	Zahl der Cholerabacillen pro 1 ccm Serum
10. Juni sofort nach Zusatz d. Cholerabac.	3 850 000
11. „ nach 24 Stunden	0

Auch mit Immunserum unter Zusatz von leicht assimilirbarem Nährmateriale, d. h. mit Mischungen von Cholera-Immunserum des Meerschweinchens Nr. 3 und Bouillon im Verhältnisse 1 : 20 und 1 : 40, wurden noch folgende Versuche über die Auflösung der Cholerabacillen bei aërober und anaërober Aufbewahrung ausgeführt.

1. Mischung von Cholera-Immunserum des Meerschweinchens Nr. 3 mit Bouillon 1 : 20.

a) Aërobe Aufbewahrung.

Datum	Zahl der Cholerabacillen in 1 ccm Serum-Bouillon-Mischung
9. Juni sofort nach Aussaat d. Cholerabac.	19 320 000
10. „ nach 24 Stunden bei 37° C.	87 040 000

b) Anaërobe Aufbewahrung.

Datum	Zahl der Cholerabacillen in 1 ccm Serum-Bouillon-Mischung
9. Juni sofort nach Aussaat d. Cholerabac.	19 320 000
10. „ nach 24 Stunden bei 37° C.	8 160 000
11. „ „ 48 „ „	0



2. Mischung des Cholera-Immunserums von Meerschweinchen Nr. 3 mit Nährbouillon 1 : 40.

Anaërobe Aufbewahrung.

Datum	Zahl der Cholerabacillen in 1 ccm Serum-Bouillon-Mischung
7. Juni sofort nach Aussaat d. Cholerabac.	22 400 000
8. „ nach 24 Stunden bei 37° C.	9 900 000
9. „ „ 48 „ „	0

Zunächst müssen wir auf einen scheinbaren Widerspruch bei den obigen beiden Versuchsreihen aufmerksam machen. Bei dem ersten und zweiten Versuche auf S. 37 über die Cholerabacillen lösende Wirkung der Cholerase des Immunserums sieht man, dass die in das Immunserum ausgesäten 29, bezw. $3^3/_4$ Millionen Cholerabacillen auch aërob innerhalb 24 Stunden völlig vernichtet, d. h. aufgelöst wurden, während bei dem Versuche auf S. 39 und 40 die 12, bezw. 19 Millionen Cholerabacillen im unverdünnten Serum zwar bei anaërober Aufbewahrung innerhalb 48 Stunden ebenfalls aufgelöst wurden, bei aërober Aufbewahrung aber sofort eine bedeutende Vermehrung eintrat, so dass die Zahl der Bacillen innerhalb 24 Stunden auf 72, bezw. 87 Millionen angewachsen war.

Dieser scheinbare Widerspruch, welcher auch uns Anfangs auffallend war, erklärt sich sehr einfach aus dem Grade der Immunisirung und er zeigt, wie sehr bei der künstlichen Immunisirung, wie überhaupt bei jedem Naturvorgange die quantitativen Verhältnisse in Betracht gezogen werden müssen, eine Thatsache, welche namentlich bei früheren Untersuchungen über die künstliche Immunität von vielen Autoren nicht genügend berücksichtigt wurde und in welchem viele, den Fortschritt der Wissenschaft hindernde, unrichtige Behauptungen begründet sind.

Sieht man die Verhältnisse genauer an, so klären sich die Widersprüche sofort auf. Die Meerschweinchen Nr. 1 und 2 wurden in viel höherem Grade immunisirt, d. h. die Menge der injicirten Cholerabacillen war insgesammt eine wesentlich höhere, als beim Meerschweinchen Nr. 3. Ausserdem erhielten die Meerschweinchen Nr. 1 und 2 grosse Mengen von Bouillonculturen der Cholerabacillen subcutan, während das Meerschweinchen Nr. 3 hauptsächlich nur mit Agarculturen immunisirt worden war. In den ersteren ist aber wahrscheinlich viel mehr Cholerase vorhanden, als in den Agarculturen. Der höhere Grad der künstlichen Immunität beim Meerschweinchen Nr. 1 gegenüber dem vom Meerschweinchen Nr. 3 spricht sich auch sehr deutlich in dem Umstande aus, dass 1 ccm des Immunserums vom Meerschweinchen Nr. 1 die hohe Zahl von $29^1/_2$ Millionen Cholerabacillen in 24 Stunden vernichtete, während 12 Millionen Cholerabacillen



von 1 ccm des Immunserums vom Meerschweinchen Nr. 3 erst nach 48 Stunden völlig aufgelöst waren. Ausserdem kommt bei diesen Versuchen auch die Art der Vertheilung der Cholerabacillenculturen im Immunserum in Betracht. Je besser die Cultur im Immunserum verrieben wird, d. h. je mehr die Cholerabacillen vertheilt werden und um so weniger Häufchen oder Conglomerate von Bacillen vorhanden sind, um so rascher wird die Auflösung erfolgen. Diesem Umstande ist es wohl zuzuschreiben, dass in der Mischung von Immunserum mit Bouillon im Verhältnisse von 1 : 20 beim Meerschweinchen Nr. 1 die völlige Auflösung von 17 Millionen Cholerabacillen 112 Stunden beanspruchte, während bei der Immunserum-Bouillonmischung vom Meerschweinchen Nr. 3 sogar 22 Millionen Bacillen schon in 48 Stunden abgetödtet waren.

Sehr bemerkenswerth ist endlich, dass eine Verdünnung des Immunserums mit Nährbouillon im Verhältnisse von 1 : 20 und andererseits im Verhältnisse von 1 : 40 keine Unterschiede in Bezug auf die zur Auflösung der Bacillen nöthige Zeit erkennen lässt, wenn das Immunserum aus sehr hoch immunisirten Thieren gewonnen wird, so dass die Cholerase in sehr grosser Concentration vorhanden ist.

Während im unverdünnten Cholera-Immunserum oft eine vollständige Auflösung der selbst in Mengen von vielen Millionen pro 1 ccm eingebrachten Cholerabacillen auch unter aëroben Verhältnissen beobachtet wurde, tritt in den Verdünnungen des Immunserums mit Bouillon bei Luftzutritt stets Vermehrung ein.[1] Die Erklärung hierfür findet sich in den Schlussbetrachtungen dieser Abhandlung.

Das wichtigste Resultat der obigen Untersuchungen ist die Feststellung der Thatsache, dass bei vermindertem Sauerstoffzutritte oder unter anaëroben Verhältnissen, wie sie innerhalb des Organismus vielen Orts gegeben sind, die bakteriolytische Leistung des Cholerase-Immunproteïns eine sehr bedeutende ist. Wenn man bedenkt, dass schon 1 ccm Cholera-Immunserum 29 Millionen Cholerabacillen innerhalb 24 Stunden zu vernichten vermag, so stellt sich die bakteriolytische Wirkung des Gesammtblutes als eine ganz enorme dar. Durch diese Ueberlegungen muss man zu der Ueberzeugung kommen, dass es durch weitere Ausbildung der Immunisirungsmethoden gelingen muss, den menschlichen und thierischen Organismus gegen jede nur denkbare Art der natürlichen Infection zu schützen. Die Bedingungen hierfür sind im Organismu[s]

[1] R. Pfeiffer (*Centralblatt für Bakteriologie*, Abth. I, Bd. XIX. S. 593) fand, dass die Cholerabakterien, wenn sie in Bouillonverdünnungen des Choleraserum wachsen, die „specifischen Choleraantikörper“ zerstören. Nach unserer Anschauung sind diese „specifischen Choleraantikörper“ unser „Cholerase-Immunproteïdin“.

jedenfalls vorhanden, und es kommt nur noch darauf an, die Enzyme bestimmter pathogener Bakterien in möglichst reinem Zustande und auf unschädliche Weise in den Organismus einzuführen.

Man könnte nun denken, dass die Cholerabacillen auch in Nährbouillon und im normalen Serum nicht immunisirter Thiere bei Sauerstoffabschluss, bezw. in Wasserstoffatmosphäre eine ähnliche Verminderung ihrer Zahl erleiden werden, wie wir dies für das Cholera-Immunserum und für die Mischungen desselben mit Bouillon ermittelt haben.

Die Ausführung dieser unumgänglich nothwendigen Controlversuche zeigte jedoch, dass sowohl in der Nährbouillon, als auch im normalen Serum nicht immunisirter Meerschweinchen bei einigermassen bedeutender Einsaat nicht nur keine Verminderung, sondern vielmehr eine sehr bedeutende Vermehrung sowohl unter aëroben als anaëroben Verhältnissen eintritt.

Das Resultat dieser Versuche war folgendes:

1. Nährbouillon mit Cholerabacillen beschickt und bei 37° C. in Wasserstoff aufbewahrt.

Anaërob:

Datum	Zahl der Cholerabacillen in 1 ccm Nährbouillon
26. Juli sofort nach Aussaat d. Cholerabac.	5 936 000
27. „ nach 24 Stunden bei 37° C.	11 060 000
30. „ „ 90 „ „	40 215 000

Es erfolgte somit in der Nährbouillon auch bei vollkommenem Sauerstoffabschlusse eine fortschreitende Vermehrung der Cholerabacillen, wenn dieselbe auch, wie voraus zu sehen war, geringer ist, als bei anaërobem Wachsthume der Cholerabacillen in Bouillon.

2. Normales Serum vom Meerschweinchen (welches sich bei 24stündigem Stehen des Blutes in Eis abgesetzt hatte) mit Cholerabacillen (24stündige Agarcultur) vermischt.

Datum	a) Aërob	b) Anaërob
	1 ccm normales Serum enthält Cholerabacillen	1 ccm normales Serum enthält Cholerabacillen
28. Juli sofort nach der Aussaat der Cholerabacillen	16 852 000	16 852 000
29. Juli 24 Stunden nach der Aussaat bei 37° C.	112 219 000	66 089 000



Beide Serumproben, sowohl die aërobe als die anaërobe, waren nach 24 Stunden stark trüb und selbstverständlich nicht agglutinirt. Die aërobe Probe ist schmutzig braun, die anaërobe schmutzig roth gefärbt, während anaërobe, mit Cholerabacillen versetzte Proben von Immunserum nach 24 Stunden stets vollkommen klar und normal gefärbt erscheinen mit einem aus agglutinirten Bacillen bestehenden Bodensatz.

Die starke bakteriolytische Wirkung des Cholera-Immunserums ist also eine ganz besondere, dem Immunserum und nicht etwa auch dem normalen Serum zukommende Eigenschaft.

2. Versuche über die Typhusbacillen lösende Wirkung von thierischem und menschlichem Immunserum unter aëroben und anaëroben Verhältnissen.

Die gleichen Versuche, wie die obigen, wurden nun auch mit Typhusbacillen und Typhus-Immunserum, sowie unter anaëroben Verhältnissen mit Typhusbacillen und Nährbouillon ausgeführt. Das Immunserum wurde von einem Kaninchen gewonnen, welches in folgender Weise immunisirt worden war:

Datum der Schutzimpfung:	Menge der subcutan injicirten Typhusbacillencultur:
20. Juni	0·3 ccm 24stünd. Bouilloncultur,
28. „	2 ccm „ „
2. Juli	$2^1/_2$ ccm „ „ mit 2 Oesen Agarcultur,
11. „	5 ccm „ „ mit 5 Oesen Agarcultur,
16. „	5 ccm 24 Stunden bei 37° C. gewachsener Bouilloncultur, in welcher eine ganze Agarcultur (schief erstarrter Agar) verrieben worden war.

Dieses Kaninchen wurde am 23. Juli verblutet und am 24. Juli nach 24stündigem Stehen des Blutes in Eis das Serum zu den folgenden Versuchen genommen. Die zu den bakteriolytischen Versuchen benutzte Typhusbacillen-Bouilloncultur war dieselbe, welche auch zur Immunisirung des Kaninchens verwendet worden war.

1. Wirkung des unverdünnten Typhus-Immunserums auf Typhusbacillen.

Datum	a) Aërob	b) Anaërob
	Typhusbacillen in 1 ccm unverdünnt. Typhusserum	Typhusbacillen in 1 ccm unverdünnt. Typhusserum
24. Juli sofort nach Aussaat der Typhusbacillen	3 019 200	3 019 200
25. Juli nach 24 Stunden bei 37° C.	1 078 000	735 600



(Fortsetzung.)

Datum	a) Aërob	b) Anaërob
	Typhusbacillen in 1 ccm unverdünnt. Typhusserum	Typhusbacillen in 1 ccm unverdünnt. Typhusserum
26. Juli n. 48 Std. bei 37° C.	1 915 000	383 120
27. „ „ 72 „ „	56 124 000	360 000
29. „ „ 110 „ „	unzählig	114 900

In eine Probe des gleichen Typhus-Immunserums wurde eine reichlichere Einsaat von Typhusbacillen gemacht und die bakteriolytische Wirkung bei aërober und anaërober Aufbewahrung in 37° C. festgestellt.

2. Wirkung des unverdünnten Typhus-Immunserums auf eine grössere Einsaat von Typhusbacillen.

Datum	a) Aërob	b) Anaërob
	Typhusbacillen in 1 ccm unverdünnt. Typhusserum	Typhusbacillen in 1 ccm unverdünnt. Typhusserum
25. Juli sofort nach Aussaat der Typhusbacillen	8 428 600	8 428 600
27. Juli n. 72 Std. bei 37° C.	63 578 000	497 900
29. „ „ 110 „ „	unzählig	191 500

Von dem zu den obigen Versuchen benutzten Typhus-Immunserum wurden nun Verdünnungen mit Nährbouillon im Verhältnisse 1:20 hergestellt und die bakteriolytische Wirkung auf Typhusbacillen durch zwei Versuche festgestellt.

3. Mischung von Typhus-Immunserum mit Bouillon 1:20.

Datum	a) Aërob	b) Anaërob
	Typhusbacillen in 1 ccm Typhusserum + Bouill. 1:20	Typhusbacillen in 1 ccm Typhusserum + Bouill. 1:20
25. Juli sofort nach Aussaat der Typhusbacillen	6 704 600	6 704 600
27. Juli n. 72 Std. bei 37° C.	383 000 000	114 900
29. „ „ 112 „ „	unzählig	76 600

Nach 72 Stunden war die anaërobe Serum-Bouillonmischung völlig klar mit einem sehr geringen Bodensatze aus agglutinirten Typhusbacillen; die aërobe Probe dagegen war stark und völlig trüb und hatte einen starken Bodensatz.

4. Mischung von Typhus-Immunserum mit Bouillon 1:20.

Datum	a) Aërob	b) Anaërob
	Typhusbacillen in 1 ccm Typhusserum + Bouill. 1:20	Typhusbacillen in 1 ccm Typhusserum + Bouill. 1:20
24. Juli sofort nach Aussaat der Typhusbacillen	10 120 000	10 120 000
25. Juli n. 24 Std. bei 37° C.	6 156 000	nicht gezählt
26. „ „ 48 „ „	10 957 232	421 432
27. „ „ 72 „ „	274 192 000	421 300
30. „ „ 132 „ „	unzählig	612 800

Diese Zahlen zeigen, dass auch das Immunserum von gegen Typhus immunisirten Kaninchen reichliche Mengen von Typhase-Immunproteïdin enthält, welches binnen 72 Stunden 8 Millionen Typhusbacillen auflöste. Je höher der Grad der künstlichen Immunität, d. h. je grösser der Gehalt des Serums an Typhase-Immunproteïdin, um so stärker ist natürlich die bakteriolytische Wirkung, welche durch den Zusatz von leicht assimilirbarem Nährmateriale (Bouillon) zum Immunserum nicht aufgehoben wird. Es ist im Gegentheil sehr auffallend, wie stark bakteriolytisch die kleine Menge Immunserum in der Bouillonmischung wirkt; denn 1 ccm Bouillonmischung enthielt bei den obigen Versuchen nur 0·05 ccm Immunserum.

Es war nun zur Controle noch festzustellen, ob in gewöhnlicher Nährbouillon bei anaëroben Verhältnissen, d. h. in Wasserstoffatmosphäre, eine Verminderung oder eine Vermehrung eingesäter Typhusbacillen eintritt, falls die Einsaat so reichlich ist, wie in den obigen Versuchen.

Die Ausführung dieses Versuches ergab ein sehr sprechendes Resultat:

Typhusbacillen in Nährbouillon ausgesät und anaërob bei 37° C. aufbewahrt.

Datum	1 ccm Nährbouillon enthält Typhusbacillen
27. Juli sofort n. Aussaat der Typhusbac.	13 409 000
28. „ nach 24 Stunden bei 37° C.	271 930 000

24 Stunden nach der Einsaat der Typhusbacillen war diese anaërob aufbewahrte Bouillon durch die starke Vermehrung der Typhusbacille völlig trüb und die Trübung nahm in den folgenden 24 Stunden so bedeutend zu, dass die Zählung, welche nicht mehr direct, sondern nur durch Verdünnung mit sterilisirtem Wasser u. s. w. ausführbar gewesen wäre, unterlassen werden konnte.



Die Zahl der Typhusbacillen, welche normales Serum von nicht immunisirten Kaninchen aërob und anaërob zu vernichten vermag, ist, wie der Versuch auf S. 49 zeigt, eine ungemein viel geringere, als jene, welche das Typhase-Immunproteïdin im Immunserum in bestimmter Zeit zur Abtödtung und Lösung bringt.

Auch das Serum von typhuskranken Menschen besitzt in der 3. Woche der Krankheit energische bakteriolytische Wirkungen; auch beim Typhuskranken bilden sich allmählich mehr oder weniger grosse Mengen von Typhase-Immunproteïdin, durch dessen Wirkung die Heilung zu Stande kommt. Der folgende Versuch zeigt die Grösse der bakteriolytischen Wirkung. Das Serum stammte von einem seit 3 Wochen an Typhus erkrankten Manne. Dasselbe war durch Aderlass schon am 30. Mai gewonnen und wurde bis zum Versuche in Eis aufbewahrt. In dasselbe wurden Typhusbacillen von einer 24 Stunden bei 37° C. gewachsenen Agarcultur eingesät.

1. Unverdünntes menschliches Typhusserum.

Datum	a) Aërob	b) Anaërob
	1 ccm Typhusserum enthielt Typhusbacillen	1 ccm Typhusserum enthielt Typhusbacillen
2. Juni sofort nach d. Aussaat	166 400 000	166 400 000
3. „ nach 24 Std. bei 37° C.	29 120 000	16 810 000

Ebenso zeigte die Verdünnung des Serums mit Nährbouillon im Verhältnisse von 1:40, wie der folgende Versuch ergiebt, sehr energische bakteriolytische Wirkungen. Auch in die Serum-Bouillonmischung wurden Typhusbacillen von einer 24 Stunden bei 37° C. gewachsenen Agarcultur eingesät.

2. Menschliches Typhusserum + Bouillon 1:40.

Datum	a) Aërob	b) Anaërob
	1 ccm Typhusserum-Bouillon enthielt Typhusbacillen	1 ccm Typhusserum-Bouillon enthielt Typhusbacillen
1. Juni sofort nach der Aussaat der Typhusbacillen	23 040 000	23 040 000
2. Juni nach 17 Std. b. 37° C.	9 400 000	4 830 000
3. „ „ 40 „ „	6 030 000	2 940 000
4. „ „ 5 Tagen „	2 880 000	nicht gezählt

1 ccm unverdünntes Serum von einem Typhuskranken in der 3. Woche vernichtete also innerhalb 24 Stunden die enorme Zahl von 137 Millionen Typhusbacillen und selbst 1 ccm des im Verhältnisse von 1:40 mit Bouillon

verdünnten Serums löste innerhalb 17 Stunden 18 Millionen Typhusbacillen auf.

Das ist eine ganz bedeutende Leistung. Diese Erkenntniss und die obigen, so sprechenden Zahlen geben uns zum ersten Male einen klaren Einblick in den Heilungsvorgang bei Infectionskrankheiten. Die Heilung wird um so früher und um so sicherer zu erwarten sein, je grösser die Menge des Typhase-Immunproteïdins im Blute und je grösser dementsprechend die bakteriolytische Wirkung des Blutserums bei Luftabschluss ist.

Hiermit hat der anaërobe bakteriolytische Versuch prognostischen Werth bekommen. Man wird in Zukunft das Blutserum von Typhuskranken auf dessen Typhusbacillen lösende Wirkung bei Luftabschluss quantitativ prüfen müssen, um auf Grund des Resultates die Prognose zu stellen. Die Prognose ist voraussichtlich um so günstiger, je früher die bakteriolytische Wirkung eine bestimmte Höhe erreicht. Es wäre zunächst angezeigt, durch eine grössere Reihe von klinisch bakteriolytischen Versuchen bei zahlreichen Typhuskranken in verschiedenen Stadien der Krankheit eine grössere Zahlenreihe zu ermitteln und diese dann mit dem beobachteten späteren Verlaufe der Krankheit zu vergleichen.

Aus dieser höchst verdienstvollen Arbeit müssen sich dann zahlenmässige Anhaltspunkte für eine sichere Prognose ergeben. Dass die Prüfung des Blutserums eines vermeintlichen Typhuskranken auf seine bakteriolytische Wirkung ein viel sichereres Mittel zur Sicherstellung der Diagnose ist, als die Agglutination, braucht kaum gesagt zu werden. An Stelle des bisher von den Aerzten ausgeführten Agglutinationsversuches muss in Zukunft der anaërobe bakteriolytische Versuch treten, da derselbe ein zahlenmässiges Resultat ergiebt und sowohl für die Diagnose als für die Prognose Ausschlag gebend und jedenfalls zuverlässiger ist, als der oft zu Täuschungen Veranlassung gebende Agglutinationsversuch.

3. Die bakteriolytische Wirkung normalen Blutes bei Sauerstoffabschluss.

Ueber die bactericide Wirkung normalen Blutes bei Sauerstoffabschluss haben wir bis jetzt nur wenige Versuche ausgeführt. Die Resultate waren negativ, d. h. es konnte ein Einfluss des Sauerstoffabschlusses auf die Grösse der Wirkung der bakteriolytischen Substanz des normalen Blutes nicht erwiesen werden.

Die folgenden beiden Versuche wurden mit frischem Kaninchen-Blutserum und 24 Stunden alten Agarculturen von Bacterium coli commune und Typhusbacillen ausgeführt.



Bactericide Wirkung normalen Kaninchen-Blutserums bei aërober und anaërober Aufbewahrung bei 37° C.

	Aërob			Anaërob		
	sofort nach Aussaat	nach 2 Stunden	nach 5 Stunden	sofort nach Aussaat	nach 2 Stunden	nach 5 Stunden
Bacterium coli commune	500 600	800 100	1 200 000	500 600	480 000	500 000
Bacillus typhi	52 000	1 000	400	52 000	800	250

Aus diesen Zahlen ist ersichtlich, dass die bactericide Wirkung des Kaninchen-Blutserums eine sehr geringe war, insofern 52 000 Typhusbacillen innerhalb 5 Stunden von 1 ^{ccm} des Serums noch nicht vollkommen vernichtet waren. Wie enorm ist dem gegenüber die bakteriolytische Wirkung der Immunsera! Durch den Sauerstoffabschluss wurde die bactericide Wirkung des normalen Serums auf Typhusbacillen nicht erhöht.

Bei Bacterium coli trat bei Luftzutritt sogar Vermehrung ein, während bei Luftabschluss die Zahl der eingesäten Keime 5 Stunden hindurch die gleiche blieb. Dieses letztere Resultat ist jedoch nicht auf eine Erhöhung der bactericiden Wirkung, sondern lediglich auf den Sauerstoffabschluss zurückzuführen, der ja bei obligat und facultativ aëroben Bakterien die Vermehrung behindert.

Im Allgemeinen ergiebt sich ein grosser Unterschied bei aërober Behandlung zwischen dem Pyocyaneus-Enzym und den Immunsera. Bei ersterem sehen wir, dass der bakteriolytische Effect aërob fast so energisch ist, wie bei anaërober Behandlung (bei Anthrax, Diphtherie, Staphylococcus pyogenes aureus, Pestbacillen u. s. w.). Dagegen können sich bei den Immunsera bei aërober Behandlung und starker Aussaat die Bakterien beträchtlich vermehren, während bei anaërober Behandlung ein sehr bedeutender bakteriolytischer Effect hervortritt. Manchem wird dies sehr mysteriös erscheinen; aber nach unserer Theorie lässt sich eine sehr einfache Erklärung hierfür geben.

Wir müssen dabei beachten, dass in beiden Fällen die Bakterien eine gewisse Menge Enzym durch oxydative Thätigkeit unwirksam machen können.

Im Immunserum ist nun das Enzym der betreffenden pathogenen Bakterien mit einem thierischen Eiweisskörper zu einem hochmolecularen Complex (immunisirender Stoff = Immunproteïdin) verbunden, welcher weit langsamer in die Membranen und das Protoplasma der Bakterien eindringen kann, als das ursprüngliche Bakterienferment an sich im freien Zustande. In beiden Fällen aber wird bei gleicher oxydativer Thätigkeit der Bakterien die Zerstörung des complexen Enzyms (Immunproteïdin)



im Immunserum grössere Fortschritte machen können, bevor eine genügende Menge in die specifisch pathogenen Bakterien selbst eindringen kann. Beim freien Enzym dagegen, welches wegen bedeutend kleineren Moleculs weit rascher in die Membran und das Protoplasma eindringen kann, gelingt es den Bakterien nicht, durch oxydative Thätigkeit in derselben Zeit genügend Enzym unschädlich zu machen.

Man kann sich die Sache am einfachsten so vorstellen, dass das freie Enzym z. B. in 10 Mal grösserer Menge in derselben Zeit in die Zellen eindringen kann, als das hochmoleculäre Enzym des Immunserums. Wenn nun in beiden Fällen die oxydative Thätigkeit der Bakterien die gleiche ist und z. B. genügt, um die nicht eingedrungene Menge des hochmolecularen Enzyms des Immunserums in vitro zu oxydiren, so wird lediglich ein entsprechender Theil des freien Enzyms ebenfalls der oxydativen Thätigkeit anheimfallen und es würden daher $^9/_{10}$ des freien Enzyms ihre bakteriolytische Thätigkeit ausüben können.

VII. Kann ein bakteriolytisches Enzym auch entgiftend auf die Toxine pathogener Bakterien wirken?

Diese Frage muss auf Grund unserer Untersuchungen ebenfalls mit ja beantwortet werden. Damit ist nun auch eine befriedigende Erklärung der Ursache, bezw. des Chemismus der künstlichen Immunität bei toxischen Infectionskrankheiten gegeben und ausserdem geht daraus hervor, dass die Ursache der Immunität bei toxischen und septicämischen Infectionskrankheiten im Wesentlichen die gleiche ist. Hier wie dort werden durch das Immunproteïdin, welches eine Verbindung des bakteriolytischen Enzyms der specifischen pathogenen Bakterien mit Blut- oder Organeiweiss darstellt, nicht nur die betreffenden pathogenen Bakterien gelöst, sondern auch deren Gifte, welche wahrscheinlich ebenfalls enzymartiger Natur sind, zerstört. Bei der Immunität gegen toxische Infectionskrankheiten ist die letztere (giftzerstörende), bei derjenigen gegen septicämische Infectionskrankheiten die erstere (bakteriolytische) Wirkung vorherrschend und von grösserer Bedeutung.

Entgiftung des Diphtherietoxins durch Pyocyaneus-Enzym.

Versuch 1. Am 15. November 1898 werden 0.1 ccm im Vacuum concentrirter, durch Berkefeldfilter filtrirter Diphtheriecultur mit 0·9 ccm destillirten und sterilisirten Wassers vermischt und unter Watte- und Gummikappenverschluss bei 37° C. aufbewahrt.

In ganz gleicher Weise wurden 0·1 ccm derselben concentrirten und filtrirten Diphtheriecultur mit 0·9 ccm einer aus gefälltem und getrocknetem



Pyocyaneus-Enzym durch sterilisirtes Wasser hergestellten Lösung vermischt und in den auf 37° C. eingestellten Brütschrank gebracht.

Am 16. November, d. h. nach 18stündigem Stehen bei 37° C., erhält ein 336 grm schweres Control-Meerschweinchen von der ersterwähnten Lösung des Diphtherietoxins in Wasser 0·3 ccm, und ein 334 grm schweres, rothgezeichnetes Meerschweinchen ebenfalls 0·3 ccm der obigen Mischung von Diphtheriecultur und Pyocyanaselösung subcutan am Bauche. — In diesen 0·3 ccm waren also in beiden Fällen 0·03 ccm der concentrirten Diphtherietoxinlösung enthalten.

Am 17. November, Vormittags, d. h. 18 Stunden nach der Injection, wird das Controlthier, welches lediglich die verdünnte Diphtherietoxinlösung erhalten hatte, todt aufgefunden.

Das rothgezeichnete Meerschweinchen, welchem von der Mischung des Diphtherietoxins mit Pyocyanaselösung injicirt worden war, ist am Leben.

Am 19. November, Abends, stirbt auch das rothgezeichnete Meerschweinchen, welches eine einmalige Pyocyanaseinjection erhalten hatte.

Dieser Versuch zeigte, dass die bei demselben injicirte Giftdosis ausserordentlich hoch ist, da das Controlthier schon nach 18 Stunden verendete. Trotzdem war eine entgiftende Wirkung der Pyocyanase nicht zu verkennen, da das damit behandelte Meerschweinchen $2^1/_2$ Tage länger lebte, als das Controlthier. Es war somit zu erwarten, dass durch Herabsetzung der Giftdosis und Wiederholung der Enzyminjection wesentlich günstigere Resultate zu erzielen seien.

Versuch 2. Bei einem zweiten Versuche wurde die Giftdosis auf $^1/_3$ der beim vorigen Versuche erwähnten herabgesetzt und das eine Meerschweinchen erhielt ausserdem an 3 auf einander folgenden Tagen Injectionen von je 0·8 ccm Pyocyanaselösung in das subcutane Gewebe des Bauches, in welches auch das Diphtherietoxin injicirt worden war. Das Controlthier starb schon 30 Stunden nach der Giftinjection, während das mit Pyocyanase behandelte Meerschweinchen erst am Abend des 3. Tages nach der Gifteinspritzung an einer secundären Infection (durch Bakterien verursacht) zu Grunde ging.

Bei demselben ergab die Section einen höchst merkwürdigen Befund.

Die Epidermis war in einmarkstückgrosser Ausdehnung an der Injectionsstelle der Pyocyanase am Bauche aufgelöst, die darunter liegende Haut war wie macerirt. Während bei dem Controlthiere, welches nur eine subcutane Injection von Diphtherietoxin in die Bauchhaut erhalten hatte, eine über den ganzen Bauch und einen Theil der Brust ausgedehnte sulzige Infiltration des subcutanen Gewebes (Diphtherieödem), ähnlich dem Milzbrandödem, zu constatiren war, fand sich bei dem mit Pyocyanase behandelten Meerschweinchen keine Spur eines solchen Oedems; dagegen war die Haut, offenbar in Folge partieller Lösung des subcutanen Gewebes ducrh die Pyocyanase, in der Umgebung der Injectionsstelle am Bauche von der darunter liegenden Fascie abgelöst und in der Peripherie dieser Stelle vertrocknet. Von der von Epidermis entblössten Hautstelle aus waren offenbar pathogene Bakterien eingewandert, welche den Tod des Thieres verursachten.



Aus diesem Versuche war demnach zu ersehen, dass bei wiederholter Pyocyanaseinjection in das subcutane Gewebe eine partielle Auflösung desselben und sogar eine Maceration und Auflösung der Epidermis durch das Pyocyaneus-Enzym beim Meerschweinchen, welches bekanntlich für die Pyocyaneusinfection sehr disponirt ist, eintreten kann. Die in Folge hiervon entstehenden kleinen Hautulcerationen heilen übrigens sehr rasch, wenn man dieselben mit Jodoform bestreut und mit Collodium deckt. Bei Kaninchen wurden ähnliche Erscheinungen bisher nicht beobachtet.

Aus diesem Versuche ergab sich also die interessante Thatsache, dass das Pyocyanasen-Enzym sogar das lebendige Gewebe der Meerschweinchenhaut aufzulösen im Stande ist.

Man darf deshalb niemals in ein und dieselbe Hautstelle wiederholte Injectionen von Pyocyanase machen. Wir zogen es vielmehr, mit Rücksicht auf dieses Vorkommniss, vor, die Pyocyanase bei Heilversuchen in die Musculatur, anstatt in das subcutane Gewebe zu injiciren.

Versuch 3. Am 17. December 1898 erhielten ein Meerschweinchen (a) von 408 ^{grm} Körpergewicht und ein 414 ^{grm} schweres Meerschweinchen (b) je 0·003 ^{ccm} der durch Berkefeldfilter filtrirten und im Vacuum concentrirten, nachgewiesener Maassen bacillenfreien Diphtherie-Bouilloncultur subcutan am Bauche. Die Giftdosis war also 10 Mal geringer, als beim ersten Versuche. Dem Meerschweinchen a werden $^1/_4$ Stunde später 1·0 ^{ccm} in sterilisirtem Wasser gelöster Pyocyanase in das subcutane Gewebe am Bauche injicirt. Am 18. December werden 0·8 ^{ccm} der gleichen Pyocyanaselösung in die Musculatur des rechten Hinterschenkels und am 19. December 0·5 ^{ccm} derselben in die Muskeln des linken Vorderschenkels injicirt. Am Abend des 19. December verendete das Controlmeerschweinchen b. Bei der Section findet sich ein über den Bauch und einen Theil der Brust ausgedehntes Oedem (sulzige Infiltration des subcutanen Gewebes), welches auch schon Tags zuvor deutlich fühlbar war, sowie die übrigen, bekannten Erscheinungen der Diphtherieintoxication (Vergrösserung und Dunkelrothfärbung der Nebennieren u. s. w.). Bei dem mit Pyocyanase behandelten Meerschweinchen a ist keine Spur einer solchen Infiltration zu bemerken; dagegen ist eine linsengrosse Stelle der Bauchhaut (Injectionsstelle der Pyocyanase) von Epithel entblösst und die Haut lässt sich leicht von der Musculatur an der betreffenden Stelle abheben. Um eine Infection von dieser Stelle aus zu verhüten, wird dieselbe mit Jodoformcollodium überstrichen. Das Thier scheint im Uebrigen gesund zu sein, es ist lebhaft und frisst Brot und Grünfutter.

Versuch 4. Zwei Meerschweinchen, dass eine (c) von 427 ^{grm} Gewicht und das andere (d), welches 415 ^{grm} schwer war, erhielten am 20. December je 0·004 ^{ccm} Diphtherietoxinlösung subcutan am Bauche. Dem schwächeren Meerschweinchen (d) wurden gleich darauf 1.0 ^{ccm} Pyocyanaselösung unter die Haut der anderen Bauchseite injicirt. Am 21., 22. und 23. December wurden diesem Thiere je 0·5 ^{ccm} Pyocyanaselösung in die Musculatur des Hinterschenkels und einer vorderen Extremität injicirt. Am 23. December erschien die Haut an einer bohnengrossen Stelle des Hinterschenkels dunkel-



roth, wie wenn ein Bluterguss unter dieselbe stattgefunden hätte. Am 24. fehlte das Epithel an dieser Stelle, weshalb dieselbe mit Jodoform bestreut und mit Collodium bestrichen wurde. Das Controlmeerschweinchen (c) verendete in der Nacht vom 22. auf 23. December. An der Injectionsstelle fand sich die sulzige Infiltration des subcutanen Gewebes und ebenso waren die Veränderungen der Nebennieren sehr charakteristisch ausgebildet. Das mit Pyocyanaselösung behandelte Meerschweinchen magerte ziemlich stark ab und frass in den ersten Tagen nach der Injection sehr wenig. Vom 25. December ab war das Thier wieder sehr lebhaft, es frass viel, und heute (1. Januar 1899) wiegt dasselbe wieder 412 ^{grm}.

Dieser Versuch wurde genau in der gleichen Weise an 5 Meerschweinchen von 431, 425, 423, 417 und 412 ^{grm} Körpergewicht wiederholt. Das 441 ^{grm} schwere Controlmeerschweinchen starb am 3. Tage nach der Injection des Diphtheriegiftes. Von den 5 anderen Meerschweinchen starb eines, welches nur zwei subcutane Pyocyanaseinjectionen erhalten hatte, $2^1/_2$ Tage nach dem Tode des Controlthieres. Die anderen 4 Thiere, welche drei, bezw. vier subcutane Injectionen von 0·5 bis 1·0 ^{ccm} Pyocyanaselösung erhalten hatten, leben noch heute. Auch die Infiltration des subcutanen Gewebes an der Injectionsstelle kam in Folge der Pyocyanaseinjection nicht zur Entwickelung.

Da die Pyocyanase nicht nur grosse Mengen von Diphtheriebacillen in vitro und im thierischen Körper aufzulösen im Stande ist, sondern auch das Diphtheriegift im Organismus zu zersetzen, bezw. unwirksam zu machen und somit sowohl die Diphtheriebacillen-Infection, als auch die Diphtherietoxin-Intoxication zu coupiren vermag, so ist es gewiss nicht unbescheiden, wenn wir den Wunsch aussprechen, dass die Kliniker bei der Behandlung der Diphtherie die Pyocyanase, wenn auch nicht anstatt, so doch neben dem Heilserum versuchen möchten.

VIII. Eigenschaften der Pyocyanase.

Hr. Dr. Gustav Graff hatte die Güte, eingehendere Untersuchungen über die Eigenschaften der Pyocyanase anzustellen. Von den erzielten Resultaten theilen wir einstweilen die folgenden mit.

Die aus den Culturflüssigkeiten gefällte Pyocyanase stellt eine hellgelbgrünliche bis olivgrüngelbe, leichte, bröcklige und amorphe Masse dar. Dieselbe löst sich in destillirtem Wasser sehr leicht, und zwar bei durchfallendem Lichte, je nach der Concentration mit brauner (starke Concentration), gelber (mittlere Concentration) oder grünlichgelber Farbe (starke Verdünnung), wie letztere gewissen Culturen des Bacillus pyocyaneus eigen ist. Bei auffallendem Lichte zeigt die Lösung (auch die tiefbraune) grüne Fluorescenz. Die Reaction der Lösung ist deutlich alkalisch.

Ferrocyanwasserstoffsäure ruft in der Lösung keine Fällung hervor. Auch Millon's Reagens oder die Biuretreaction geben keine Violettfärbung. Dagegen tritt beim Kochen geringer Mengen der Substanz mit rauchender Salzsäure eine sehr deutliche Violettfärbung auf, die bei etwas grösserer Substanzmenge von einer dunklen Malagafarbe abgelöst wird, welche letztere aber noch deutlich eine violette Farbenuance erkennen lässt.

Wird die Substanz mit Kalilauge schwach erwärmt, so tritt intensive Gelbfärbung ein und auf Zusatz von Bleiacetatlösung entsteht allmählich ein geringer schwarzer Bodensatz, so dass die Substanz geringe Mengen Schwefel zu enthalten scheint. In schwach alkalischer Lösung mit Wasserstoffsuperoxydlösung versetzt, entwickelt die Pyocyanase entweder so stürmisch Sauerstoff, dass fast der ganze Inhalt des Reagensglases herausgeschleudert wird, oder aber die Entwickelung von Sauerstoff geht weniger plötzlich, aber immer sehr lebhaft von statten und hält Stunden lang an. Diese Eigenschaft behält die Pyocyanase unverändert bei, auch wenn sie längere Zeit (5 Tage) unter Alkohol aufbewahrt wird; ebenso zeigte sie dieselbe noch nach 24stündigem Stehen unter Chloroform.

Höchst merkwürdig ist das Verhalten der Pyocyanase gegen hohe Temperaturen. 2 ccm Pyocyanaselösung wurden $1^1/_2$ Stunden auf 85 bis 90° C. erhitzt, mit 2 619 744 Milzbrandbacillen (24stündige Agarcultur bei 37° C. gewachsen) versetzt und nach wenigen Minuten Gelatineplatten mit je 3 und 1 Oese dieser Mischung hergestellt und bei 24° C. aufbewahrt. Zwei schief erstarrte Agarproben wurden mit je 1 und 5 Oesen der Mischung derart bestrichen, dass die Oberfläche des Nährbodens an vielen Stellen mit dem Platindraht geritzt wurde, um etwa noch lebensfähige Milzbrandbacillen in tiefere Schichten des Agars zu bringen und dieselben so der Wirkung der mitübertragenen minimalen Mengen von Enzym zu entziehen. Alle diese Gelatineplatten und Agarproben blieben wider Erwarten steril. Selbstverständlich war das Gleiche der Fall bei ebenso viel Gelatineplatten und Agarproben, welche 2, 7 und 24 Stunden nach Zumischung der Milzbrandbacillen durch Aussaat gleicher Mengen der Pyocyanase-Milzbrandbacillen-Suspension hergestellt worden waren.

Ein gleiches Resultat hatten zwei Versuche, bei welchen eine ebenso grosse Zahl von Milzbrandbacillen in 2 ccm Pyocyanaselösung gebracht wurde, nachdem dieselbe, im Reagensglase befindlich, $1^1/_2$ Stunden (bei 721 mm Barometerstand, also bei einer Temperatur von 98·5° C.) im kochenden Wasser gestanden hatte.

Die Zahl der in die Pyocyanaselösung ausgesäten Milzbrandbacillen wurde so ermittelt, dass von derselben Milzbrandbacillen-Aufschwemmung in Wasser, von welcher 6 Oesen in 2 ccm Pyocyanaselösung übertragen



worden waren, in analoger Weise auch 6 Oesen in 2 ccm sterilisirtes Wasser gebracht wurden, aus welchem dann je 1 und 3 Oesen auf Gelatineplatten (Petrischalen) ausgesät wurde. Da nach Ficker[1] in destillirtem Wasser eine grosse Zahl älterer Bakterienzellen rasch ihre Entwickelungsfähigkeit verlieren, so sind die angegebenen Zahlen der in der Pyocyanaselösung momentan abgetödteten Milzbrandbacillen eher zu gering, als zu hoch angegeben.

2 619 744 vollvirulenter Milzbrandbacillen waren also fast momentan, oder höchstens in 5 Minuten durch 2 ccm Pyocyanaselösung völlig vernichtet worden. Wahrlich eine ganz enorme Zahl und eine ganz gewaltige Leistung!

Sogar die einstündige Einwirkung des strömenden Dampfes (von 98·5° C. bei 721 mm Barometerstand) war nicht im Stande, die bakteriolytische Wirkung der Pyocyanase aufzuheben. Es war nur eine Verminderung der bakteriolytischen Eigenschaften zu constatiren; auch die anderen wesentlichen Eigenschaften der Pyocyanase, wie z. B. die Sauerstoffentwickelung bei Zusatz von schwach alkalisch gemachter Wasserstoffsuperoxydlösung, blieben erhalten. Die Sauerstoffentwickelung war allerdings weniger stark, als bei nicht erhitzten, gleich grossen Pyocyanaseproben.

Trotz der Widerstandsfähigkeit der Pyocyanase gegen hohe Temperaturen müssen wir dieselbe dennoch als eine enzymartige Substanz bezeichnen, weil die räthselhafte und so energische Wirkung der minimalsten Mengen dieses Stoffes nur bei dieser Annahme erklärbar erscheint.

Analoge Beobachtungen wurden übrigens auch bei anderen eiweisslösenden, sogenannten peptonisirenden Fermenten, z. B. von Wurtz[2] beim Papaïn (Papayotin) gemacht. Wurtz constatirte, dass nach dem Erhitzen auf 105° die peptonisirende Wirkung des Papayotins vollkommen erhalten war.

Die grosse Widerstandsfähigkeit der Pyocyanase gegen hohe Temperaturen erscheint weniger merkwürdig, wenn man die, allerdings erst ganz kürzlich, von uns constatirte Thatsache beachtet, dass auch der Bacillus pyocyaneus $^3/_4$stündiges Erhitzen im kochenden Wasserbade und $1^1/_4$stündiges Erhitzen auf 85 bis 90° C. aushält, ohne seine Entwickelungsfähigkeit zu verlieren, oder auch nur Einbusse daran zu erleiden. Eine durch Berkefeldfilter filtrirte, im Vacuum auf $^1/_{10}$ concentrirte Cultur des Bacillus pyocyaneus wurde $^3/_4$ Stunde im kochenden Wasserbade und eine andere

[1] Martin Ficker, Ueber Lebensdauer und Absterben von pathogenen Keimen. *Diese Zeitschrift.* 1899. Bd. XXIX.

[2] *Compt. rend.* 1890, p. 1379, und 1891, p. 787.



Probe der gleichen Flüssigkeit $1^1/_4$ Stunden auf 85 bis 90° C. erhitzt und einige Oesen von beiden Proben auf Nähr-Agar-Agar übertragen. Schon am nächsten Tage war auf beiden Proben ein intensiv grün gefärbter Belag von Pyocyaneusbacillen zur Entwickelung gelangt. Es ist immerhin möglich, dass der Bacillus pyocyaneus bis jetzt nicht nachgewiesene Sporen bildet, welche so klein sind, dass sie durch Berkefeldfilter hindurchgehen.

Bringt man eine minimale Menge Pyocyanase (1^{mg} der getrockneten Substanz) auf Nährgelatine, so wird die letztere bei 22° C. so energisch verflüssigt, dass in 24 Stunden der ganze Inhalt des Reagensglases in Flüssigkeit umgewandelt ist. Diese Eigenschaft ist von praktischem Werthe, da dieselbe neben der Wasserstoffsuperoxydreaction ein einfaches Mittel bietet, um Pyocyanasepräparate rasch auf ihre Wirksamkeit zu prüfen.

Auch Fibrin wird durch die Pyocyanase rasch gelöst. 3^{ccm} des im Vacuum concentrirten Filtrates von Pyocyaneusculturen wurden mit 2^{grm} Fibrinflocken versetzt und am Abend in den auf 37° C. eingestellten Brütschrank gestellt. Am nächsten Morgen waren die Fibrinflocken vollkommen gelöst. Nun wurden nochmals 1 bis 2^{grm} Fibrin zugesetzt, welche schon nach 4 Stunden bei 37° C. gelöst waren.

Sehr interessant ist die Wirkung der alkalisch reagirenden Pyocyanase einerseits und einer stärker alkalisch gemachten, sowie einer saueren Pyocyanaselösung andererseits auf Hühnereiweiss.

Bringt man durch 10 Minuten langes Kochen coagulirtes Hühnereiweiss mit einer sehr geringen Menge Enzym in wässeriger Lösung (1^{mg}) zusammen, so wirkt dies schon bei der geringen Temperatur von 22° C. sehr energisch auf das Hühnereiweiss ein und löst im Laufe von 12 Stunden mehrere Gramm. Viel energischer ist die Einwirkung des Enzyms jedoch, wenn man die schwache Alkalität der Lösung durch Zusatz geringer Mengen Alkali vermehrt. Bei einer Temperatur von nur 22° C. wurden durch eine solche, stärker alkalisch gemachte Pyocyanaselösung 5^{grm} Hühnereiweiss in 12 Stunden vollkommen gelöst.

In einer schwach mit Salzsäure angesäuerten Pyocyanaselösung wird dagegen coagulirtes Hühnereiweiss unter den oben erwähnten Verhältnissen gar nicht gelöst.

Aus allen diesen Eigenschaften geht mit Sicherheit hervor, dass ein proteolytisches Enzym vorliegt, und zwar ein zu den Trypsinen gehörendes Bakterien-Enzym.



Schlussbetrachtungen.

Aus unseren Untersuchungen ergeben sich die folgenden Schlüsse:

1. Der in den meisten Flüssigkeitsculturen von Bakterien, trotz des Vorhandenseins genügenden und geeigneten Nährmateriales, allmählich (d. h. nach Tagen oder Wochen) eintretende Stillstand der Entwickelung beruht auf der Entstehung enzymartiger Stoffe, welche von den Bakterien selbst gebildet werden und diese schliesslich wieder auflösen.

2. Es giebt bakteriolytische Enzyme, welche nicht nur die eigene Bakterienart (conforme Enzyme), sondern auch solche, welche verschiedene andere (auch pathogene) Bakterienarten aufzulösen vermögen (heteroforme Enzyme).

3. Die Heilung mit sogenannten „Stoffwechselproducten" oder unfiltrirten Culturen der Bakterien beruht auf dem Vorhandensein bakteriolytischer Enzyme in den Culturen.

4. Die künstliche Immunisirung mit sogenannten „Stoffwechselproducten" oder mit unfiltrirten Culturen pathogener Bakterien beruht darauf, dass sich allmählich im Blute eine haltbarere Verbindung zwischen dem bakteriolytischen Enzym der Bakterien und einem Eiweisskörper des Blutes oder mit Organeiweiss bildet. Dieses resultirende Immunproteïdin hat noch die bakteriolytischen Eigenschaften des ursprünglichen Enzyms.

5. Diese Vereinigung, welche im Thierkörper nur sehr langsam und bei grossen Verlusten an Enzym vor sich geht, kann in kurzer Zeit auch in vitro durch chemische Einwirkungen hergestellt werden. Man ist also jetzt im Stande, wenigstens bei einzelnen Infectionskrankheiten Heilserum ohne Zuhülfenahme des thierischen Organismus künstlich zu bereiten.

6. Die sogenannte Agglutination ist weiter nichts als das erste Stadium des bakteriolytischen Effectes des Enzyms.

7. Die Immunsera wirken bei Ausschluss von Luft im Allgemeinen weit energischer bactericid, als bei Luftzutritt, was man bisher vollständig übersehen hat. Aber auch bei Luftzutritt kann man bei hoher Concentration der Bakterienfermente (bezw. Immunproteïdine) stark baktericide Wirkungen gewisser Immunsera beobachten.

8. Es giebt Bakterien-Enzyme, welche im thierischen und menschlichen Organismus nicht nur baktericid, sondern auch toxinvernichtend wirken. So ist z. B. das Enzym des Bacillus pyocyaneus (Pyocyanase) im Stande, die krankmachende und tödtliche Wirkung des Diphtherietoxins vollständig aufzuheben.

9. Die Pyocyanase dürfte nach den mitgetheilten Experimenten an Thieren zur erfolgreichen Behandlung des Milzbrandes, der Diphtherie, der Pest u. s. w. geeignet sein.

10. Durch das in vitro dargestellte Pyocyanase-Immunproteïdin kann ein hoher Grad von mindestens 14tägiger Immunität gegen Milzbrand erzielt werden.

11. Die bei der Pyocyanasebehandlung von Milzbrand u. s. w. eintretende Erhöhung der Körpertemperatur um ca. 1° C. ist lediglich die Folge der Enzyminjection. Ein Einfluss der bei der Auflösung der Bakterien in's Blut gelangenden Bakterienproteïne auf die Körpertemperatur tritt meistens nicht hervor, wahrscheinlich, weil die letzteren durch das Enzym nicht nur gelöst, sondern gleich weiter zersetzt werden.

12. Die baktericide Wirkung des normalen Blutes wird wahrscheinlich ebenfalls durch enzymartige Stoffe verursacht. Hierfür spricht unter Anderem der Umstand, dass auch durch normales Blutserum bei höherer Concentration Agglutination bewirkt wird.

Die bekannte Beeinflussung des Anthrax durch Bacillus pyocyaneus wollen Woodhead und Wood[1] durch den „Antagonismus der Gifte", Bitter[2] durch „Stoffwechselproducte", Blagovetschewski[3] durch die flüchtigen Producte (Ausdünstung) erklären. Die hemmende Wirkung, welche der Pyocyaneus in seinen eigenen Culturen erfährt, sucht Bitter im reichlich gebildeten Alkali und in der Erschöpfung des Nährbodens; die Hemmung, welche der Schweinerothlaufbacillus in seinen eigenen Culturen erfährt, sucht er dagegen in einer Säureproduction.

Nach unseren Erfahrungen spielen aber die unter den sogenannten Stoffwechselproducten befindlichen Enzyme die erste Rolle bei diesen Hemmungen der Culturen, oder diesen Beeinflussungen fremder Bakterienarten. Hierfür spricht auch die Thatsache, dass trotz reichlichen Vorhandenseins der nöthigen Nahrungsstoffe und trotz der Neutralisation gebildeter Säure kein neues Wachsthum in den Culturen stattfindet.

Die Pyocyanase ist besonders dadurch vortheilhaft ausgezeichnet, dass sie, direct intravenös injicirt, keine erheblichen Störungen durch Lösung von Blutkörperchen hervorruft, obgleich sie befähigt ist, Fibrin aufzulösen. Ganz anders ist das Verhalten des Pankreassaftes, welcher, wie Nencki und Tschipurkowski[4] feststellten, einem Kaninchen intravenös injicirt, öfters schon in Dosen von 1·5 ccm in wenigen Minuten bis einigen Stunden

[1] *Compt. rend. de l'Acad.* T. CIX. Nr. 26.
[2] Baumgarten's *Jahresbericht.* 1891.
[3] *Ebenda.* 1890. S. 538. — *Annales de l'Institut Pasteur.* 1890. p. 11.
[4] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXIII. Nr. 19 u. 20.



den Tod des Thieres durch Fibringerinnung, Verstopfung der Blutgefässe, Stauung des venösen Blutes und dadurch bedingte geringe Füllung des linken Herzens, sowie Sinken des Blutdruckes herbeiführt.

Nach jenen Autoren enthält der Pankreassaft auch etwas Fibrinferment. Indessen ist doch die Möglichkeit noch vorhanden, dass die Blutgerinnung auch indirect durch Tödten und Lösung der Leukocyten erfolgte. Nicht alle Bakterien-Enzyme dürften indess so harmlos sein, wie die Pyocyanase; denn die im Vacuum concentrirten und filtrirten Culturen der Erysipelstreptokokken lösen die rothen Blutkörperchen bei intravenöser Injection auf.

Bei intravenöser Injection selbst sehr grosser Mengen von Pyocyanase entsteht bei Kaninchen eine rasch vorübergehende Temperatursteigerung von ca. 1° C. So betrug die Körpertemperatur bei einem 2522 ^{grm} schweren Kaninchen, welchem 0·02 ^{grm} reiner, aus der concentrirten und filtrirten Cultur gefällten, trockenen Pyocyanase nach dem Lösen in schwach alkalischem sterilisirten Wasser, in eine Ohrvene injicirt worden waren, nach 4 Stunden 40.1° C. Vor dem Versuche war die Körpertemperatur 39·4° C. und ebenso hatte dieselbe 12 Stunden nach der Injection wieder die normale Höhe, nämlich 39·3° C.

Nicht jede Bakterienart scheidet proteolytische Enzyme aus, wie längst bekannt ist. Manche Arten sind so exclusiv parasitär geworden, dass sie mit der leichteren Aufnahme bereits gelöst vorhandener Nährstoffe die Fähigkeit ganz verloren haben, auch ungelöste Nahrungsstoffe durch herzustellende Enzyme zu lösen. Hierher gehört besonders der Tuberkelbacillus, der keine Enzyme — wenigstens keine hier in Betracht kommenden — zu bilden scheint. Heilung mit abgetödteten Culturen, oder mit den Presssäften desselben ist deshalb naturgemäss unmöglich. Ebenso ist jede Bemühung vergebens, hier ein Heilserum in ähnlicher Weise wie für Diphtherie herzustellen. Wohl wäre es aber denkbar, dass gewisse andere Bakterien Enzyme ausscheiden könnten, welche auch den Tuberkelbacillns lösen, und dann wäre wohl auch Heilung und Immunisirung mit einem daraus nach unserer Methode herzustellenden Immunproteïdin denkbar. Ein nicht zu unterschätzendes Hinderniss für das genügende Eindringen eines Enzyms dürfte der hohe Fettgehalt sein, der nach de Schweinitz über ein Drittel der Trockensubstanz der Tuberkelbacillen beträgt.

Man könnte noch einwenden, dass nicht unser Enzym in Form des Pyocyanase-Immunproteïdin die Immuinsirung bewirke, sondern dass es die von jenem Enzym während der Entwickelung der Culturen gelösten Proteïne des Bakterienprotoplasmas selbst sind, welche, in haltbarere Form in's Thier gebracht, das wirksame immunisirende Agens



bilden. Ist schon an und für sich diese Hypothese eine gezwungene, so wird sie noch dadurch höchst unwahrscheinlich, dass die proteolytischen Enzyme der Bakterien bekanntermassen sich nicht mit dem blossen Lösen und Peptonisiren begnügen, sondern die peptonisirten Proteïne auch leicht weiter in die bekannten Basen und Amidosäuren spalten, worauf diese weiter vergohren werden, wenn kräftige Bacillen vorhanden sind. In einer 4 Wochen alten Pyocyaneuscultur dürften deshalb Plasmaproteïne nur in verschwindenden Mengen unzersetzt noch in Lösung sein.

Die Bakteriologen, welche sich in neuerer Zeit mit den Giftstoffen der Bakterien experimentell beschäftigt haben, sind der übereinstimmenden Ansicht, dass die Giftstoffe sich in der Zellsubstanz der Bakterien befinden, so dass sie also auch in den von Buchner, Koch u. A. hergestellten Presssäften der Bakterien, in den sogenannten Plasminen enthalten sind.

Nach R. Pfeiffer[1] sind z. B. die Giftstoffe bei Typhus- und Cholerabacillen sehr labiler Natur und hauptsächlich an die Bakterienkörper gebunden. Selbstverständlich können auch in den von den Bakterien befreiten Flüssigkeitsculturen solche aus den Bakterienkörpern stammende Giftstoffe enthalten sein, weil ja die meisten pathogenen Bakterien Enzyme bilden, welche eine gewisse Zahl von Bakterien mit der Zeit auflösen, so dass auch die Giftstoffe in Lösung gehen. Jedenfalls ist aber die Giftmenge in der Flüssigkeit gering, weil in frischen Culturen noch wenig Bakterien aufgelöst sind, während in älteren nicht bloss Lösung, sondern, wie oben ausgeführt wurde, eine weitere Zersetzung der an und für sich sehr labilen Giftstoffe stattfindet.

Es war daher entschieden ein Missgriff, wenn man die Presssäfte der Bakterien, die Plasmine, zur Heilung und Immunisirung bei Infectionskrankheiten anwenden wollte. Es kann hierdurch nur eine Vergiftung, aber keine Heilung des kranken Organismus erzielt werden.

Wir sind aber weit entfernt davon, den betreffenden Autoren, welche die Plasmintherapie zuerst versucht haben, einen Vorwurf zu machen. Wir müssen im Gegentheil die betreffenden Versuche als sehr verdienstvoll bezeichnen. Man wusste zwar schon lange, dass die Zellsubstanz der Bakterien giftige und pyogene Stoffe enthält, aber die Erkenntniss des Chemismus des Heilungs- und Immunisirungsvorganges war noch zu unvollkommen, so dass die Vermuthung, es könne hierbei auch der Zellinhalt der Bakterien und die Umwandlung der Giftstoffe in immunisirende Substanzen eine Rolle spielen, nicht von der Hand zu weisen war. Erst jetzt, nachdem wir die Bedeutung der bakteriolytischen Enzyme für Heilung

[1] *Deutsche med. Wochenschrift.* Bd. XX. S. 898.



und Immunisirung erkannt haben, können wir die erwähnte Vermuthung als unrichtig bezeichnen.

Wenn nach Injection von Presssäften der Bakterien (Bakterienplasminen) Heilungserscheinungen wirklich beobachtet wurden, so kann dies nur in einer Beimengung von Enzym oder Zymogen bedingt gewesen sein.

Hier sei auch der interessanten neuen Untersuchungen von Nencki, N. Sieber und E. Schoumow-Simanowski[1] über die Entgiftung der Bakterientoxine durch die Verdauungsfermente gedacht. Dieselben zeigten z. B., dass der pankreatische Saft im Darme das Diphtherietoxin vernichtet.

Es liegt daher der Schluss nahe, dass auch die Pyocyaneustoxine in unserer concentrirt hergestellten Pyocyaneus-Fermentlösung durch die Pyocyanase selbst zerstört wurden.[2] Damit stimmt überein, dass wir keine besonderen Krankheitserscheinungen bei der Injection unserer concentrirten, fermentreichen Flüssigkeit wahrgenommen haben.

Es begreift sich nunmehr leicht, dass ein antibakterielles Serum zu gleicher Zeit ein antitoxisches sein kann, indem die Bakterien-Enzyme des Immunserums nicht nur die Bakterien, sondern auch die Toxine zerstören. Wenn andererseits ein antitoxisches Serum nicht zugleich baktericid wäre, so müssten sich ja die betreffenden Bakterien, deren Gift allein zerstört werden soll, in's Unendliche im Thierkörper vermehren. Die Alexinwirkung kommt ja nach einer gewissen Ausbreitung der Infection nicht mehr in Betracht.

Die Erscheinung der Agglutination wurde in ihrer Ursache sowohl, als in Bezug auf das Verhältniss zur Heilung verschieden beurtheilt. Nach Nicolle[3] soll sie auf der Anwesenheit einer Substanz in der Bakterienhülle bestehen, welche von dem entsprechenden Serum zur Gerinnung gebracht wird. Damit ist wohl die weitere Behauptung Nicolle's sehr schwer zu vereinbaren, dass diese Substanz sehr widerstandsfähig gegen Alkalien und Säuren sei und sich in absolutem Alkohol und Aether löse (!). Nach ihm steht diese Substanz auch nicht zu den Toxinen und zu den immunisirenden Stoffen in irgend einer Beziehung.

Trumpp beobachtete, dass irgend welche indifferente schleimige Substanzen bei Cholera- und Typhusmikroben Verklebung und Haufenbildung ebenfalls erzeugen können. Bezüglich der Bedeutung der Agglutination urtheilt dieser Autor folgendermassen:

„Nach alledem erscheint das Phänomen der Agglutination als der sichtbare Ausdruck einer, durch die specifischen Immunsera bedingten,

[1] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXIII. Nr. 19 u. 20.

[2] Zum Theil können die Toxine allerdings auch durch Dialyse entfernt worden sein, welche wir behufs Reinigung unserer Enzymlösung vornahmen.

[3] *Annales de l'Institut Pasteur.* T. XII. p. 161.



tiefer greifenden Schädigung der Bakterienzelle, die allerdings nur als eine vorübergehende, nicht unmittelbar die Lebensfähigkeit vernichtende, aufzufassen ist.

Die Bakterienzelle erweist sich aber in diesem Zustande bedeutend angreifbarer für den Einfluss der activen Alexine normalen Blutserums, und dies ist der Grund für die antibakterielle Schutzwirkung der specifischen Cholera- und Typhus-Immunsera und zugleich die nähere Erklärung für das Wesen der Immunität bei beiden bakteriellen Infectionen."[1]

Die „active Betheiligung des Thierkörpers" dürfte nicht in der Verwendung der Alexine zur Tödtung der agglutinirten Bakterien bestehen, sondern nach unserer Auffassung in der Ueberführung des bakteriolytischen Enzyms in eine hochmoleculare, haltbarere Form im Thiere, welche nicht im täglichen Stoffwechsel zersetzt wird. Da, wie wir nachgewiesen haben, die bakteriolytischen Enzyme, oder die daraus im Organismus sich bildenden Immunproteïdine die pathogenen Bakterien bei dem im Thierkörper bestehenden Sauerstoffmangel vernichten und auflösen, so ist es nicht nöthig, auch noch die Alexinwirkung zur Erklärung des Chemismus der erworbenen Immunität heranzuziehen.

Gruber glaubt, dass seine hypothetischen Agglutinine irgendwo im Körper aufgespeichert sind und allmählich dem Blute zugeführt werden, wo sie dann der Zerstörung anheimfallen; Arloing dagegen meint, dass diese Zerstörung in Leber und Milz vor sich gehe.[2]

Nach Pfeiffer ist die Agglutination lediglich eine entwickelungshemmende Eigenschaft des Immunserums, und kommt die bactericide Substanz nur im und durch den Thierkörper zur Geltung.

Nach unserer Ansicht liegt in dem Wesen der Agglutination auch wieder eine Schutzwirkung für die Bakterien selbst; denn die im Inneren der gebildeten Klümpchen eingehüllten Bakterien entgehen ja eine Zeit lang dem Angriffe des fermentartig wirkenden Immunproteïdins.

Nachdem wir nachgewiesen haben, dass die Agglutination nichts Anderes ist, als eine durch die bakteriolytischen Enzyme bewirkte Veränderung der Bakterienzelle, erscheint diese bisher so räthselhafte Erscheinung völlig klargestellt. Die Bakterien, deren Membran durch die Enzymwirkung verquollen und theilweise aufgelöst ist, haben die Fähigkeit der vegetativen Thätigkeit verloren, dieselben sinken zu Boden und werden bei beschränktem Sauerstoffzutritt, wie er auch im thierischen und

[1] Trumpp beobachtete auch bereits, dass der schädigende Einfluss der Agglutination durch die Immunsera um so grösser ist, je stärker die Agglutination selbst eintritt, was man freilich schon a priori hätte erwarten dürfen. *Diese Zeitschrift.* 1897.

[2] *Soc. nat. de méd. de Lyon.* Februar 1897.



menschlichen Körper besteht, bald ganz, bis auf unlösliche Reste (gewisse anorganische Stoffe, Fett u. s. w.), aufgelöst.

Den Umstand, dass die Immunsera zwar im Thierkörper, nicht aber in vitro baktericid wirken, erklärte ganz neuerdings ein Schüler Metschnikoff's durch die Annahme, das Immunserum wirke als Stimulanz auf diejenigen Körperzellen, denen die Vertheidigung des Organismus gegen die Bakterieninvasion obliegt. In ganz ähnlicher Weise erklärten andere Autoren die baktericide Wirkung der Immunsera im Thierkörper und die Wirkungslosigkeit in vitro damit, dass sie annahmen, das Immunserum verursache eine „Umstimmung“ des thierischen Körpers. Damit ist aber eigentlich keine Erklärung dieser Vorgänge gegeben; denn es bleibt völlig dunkel, was wir uns unter dieser „Umstimmung“ oder unter der stimulirenden Wirkung vorstellen sollen.

Durch unsere Untersuchungen wurde für Cholera und Typhus bewiesen, dass bei der grossen Verschiedenheit der Wirkung des Immunserums innerhalb und ausserhalb des Körpers der Luftabschluss, wie er in der Bauchhöhle, im subcutanen Gewebe u. s. w. mehr oder weniger vollkommen besteht, die Hauptrolle spielt; denn wir haben gezeigt, dass Typhus- und Choleraimmunserum bei Sauerstoffabschluss auch in vitro sehr energisch baktericid wirkt. Bei Sauerstoffabschluss sind die Bakterien nicht mehr im Stande, sich durch oxydative Thätigkeit gegen die Angriffe des Enzyms, bezw. bakteriolytischen Immunproteïdins zu wehren und einen Theil desselben unwirksam zu machen; die wehrlosen Bakterien werden deshalb durch letzteres rasch und leicht aufgelöst. Damit ist das räthselhafte Phänomen durch einen höchst einfachen und natürlichen Umstand — den Sauerstoffabschluss, welcher die bakteriolytische Thätigkeit des Immunproteïdins erleichtert — in vollkommen befriedigender Weise erklärt, und wir brauchen nicht mehr zu so unbestimmten Hypothesen, wie die oben genannten, unsere Zuflucht zu nehmen.

Ausser dem Sauerstoffabschlusse oder Luftmangel kommen im thierischen und menschlichen Körper allerdings noch einige andere, den bakteriolytischen Effect und die Energie der Enzyme oder Immunproteïdine begünstigende Umstände in Betracht, welche den geringen Unterschied, der in Bezug auf die bakteriolytische Wirkung in vitro bei Sauerstoffabschluss und im Thierkörper vielleicht noch bestehen mag, ganz erklärlich erscheinen lassen. Ausser anderen Verhältnissen von untergeordneter Bedeutung dürfte im lebenden Körper, wie erwähnt, auch der Umstand von grossem Einflusse sein, dass Bakterienconglomerate durch den Blutkreislauf, die Darmperistaltik u. s. w. zu Einzelindividuen oder kurzen Ketten von solchen zertheilt werden, so dass sie nun leichter von dem im ganzen Organismus verbreiteten Enzym oder Immunproteïdin aufgelöst



werden können. In ausserordentlichem Maasse wird weiterhin der bakteriolytische Effect gewisser Nucleasen durch die alkalische Reaction des Blutes erhöht. So haben wir, wie oben erwähnt, für die Pyocyanase nachgewiesen, dass die eiweisslösende Wirkung in sauren Medien sehr gering, in schwach alkalischen bedeutend und in stark alkalischen ausserordentlich energisch ist.

Verschiedene, bisher ganz unerklärliche Beobachtungen über die bakteridice Wirkung der Immunsera finden nach den oben besprochenen Thatsachen eine vollkommen befriedigende Erklärung, so z. B. das folgende, höchst interessante Versuchsresultat, über welches R. Pfeiffer[1] berichtet: „Es ist möglich, Verdünnungen des Serums mit Bouillon herzustellen, welche im Reagensglase so gut wie gar keine abtödtenden Wirkungen auf die Cholerabakterien entfalten, welche sogar für diese Mikroorganismen ein gutes Nährsubstrat abgeben, während andererseits dieselben Serumbouillongemische im Peritoneum des Meerschweinchens die stärksten Vibrionen auflösenden Effecte veranlassen. Ja noch mehr. Ich besäete derartige Bouillonverdünnungen des Serums mit Choleravibrionen und stellte sie 24 Stunden in den Brütschrank. Die Röhrchen waren nach Ablauf dieser Zeit durch die massenhafte Entwickelung lebhaft schwärmender Vibrionen stark getrübt. Wenn ich nun zu 1 ccm dieses sicherlich aller baktericiden und entwickelungshemmenden Substanzen beraubten Bouillonserumgemisches noch 1 Oese virulenter Choleracultur hinzufügte und dann die so gewonnene Aufschwemmung neuen Meerschweinchen intraperitoneal injicirte, so erhielt ich vollständig typische, in 20 Minuten sich abspielende Vibrionenauflösung.“ Dieses Versuchsresultat erschien Gruber so merkwürdig, dass derselbe, an eine Täuschung glaubend, darüber sagte: „Wäre das wahr, so wäre bewiesen, dass die Glabrificine mit dem Schutzvorgange nichts zu thun haben.“ Das, was R. Pfeiffer fand, ist ohne Zweifel wahr und erklärt sich einfach aus dem Umstande, dass die Choleravibrionen im Reagensglase eine gewisse Menge des bakteriolytischen Immunproteïdins durch Oxydation unwirksam machten, während dieselben in der Bauchhöhle des Meerschweinchens bei vollkommenstem Luftabschlusse wehrlos waren, so dass sie nun von der geringen Menge noch vorhandenen Immunproteïdins leicht und rasch aufgelöst wurden, zumal durch die Darmperistaltik die Agglutination verhindert wird, welche im Reagensglase die im Inneren der Klümpchen gelagerten Vibrionen gegen die Angriffe der Enzymverbindung schützt.

Aus unseren Untersuchungen ergeben sich zahlreiche neue Gesichtspunkte in Bezug auf die Fragen der künstlichen Immunität und die

[1] *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde.* 1896. Bd. XX. S. 130.

Heilung von Infectionskrankheiten. So dürfte es voraussichtlich bald gelingen, Heilserum auf künstlichem Wege, ohne Zuhülfenahme des thierischen Organismus, in viel kürzerer Zeit, als es bisher möglich war, herzustellen.

Um z. B. ein genügend wirksames Diphtherie-Heilserum von Pferden zu erzielen, sind so oft wiederholte Injectionen der abgetödteten Bakterienculturen nöthig, dass die Immunisirung 4 bis 6 Monate beansprucht. Auch nach der verbesserten Methode von Pawlowsky und Maksutow nimmt die Behandlung noch 40 bis 50 Tage in Anspruch. Nach unserer Ansicht ist mit diesen Methoden enormer Zeit- und Materialverlust verbunden. Das Bakterien-Enzym — Diphtherase von uns genannt — wird offenbar zum grössten Theile im Thierkörper zerstört, fällt dem Stoffwechsel anheim, bevor es sich mit dem Proteïdin des Blutes zu dem weit haltbareren Stoffe, dem Diphtherase-Immunproteïdin, verbinden kann, welcher bei seiner hochmolecularen Beschaffenheit weniger leicht in die Thierzellen einzudringen vermag und daher besser vor der Zerstörung geschützt ist. Wie es uns nun bei der Pyocyanase gelungen ist, dieselbe auf chemischem Wege mit Blut-, bezw. Organeiweiss zu verbinden und so ein Immunproteïdin herzustellen, welches als hochmolecularer Körper weniger leicht im Thierkörper zerstört wird und deshalb immunisirende Wirkungen entfaltet, so dürfte es nach derselben, von uns angewendeten Methode möglich sein, auch Diphtherase-, Cholerase-, Typhase-Immunproteïdin u. s. w. künstlich zu bereiten.

Ueber diese Methode und über diesbezügliche Versuche werden wir in einer weiteren Abhandlung berichten.

Durch das Resultat der oben beschriebenen Untersuchungen und Ueberlegungen ist der bakteriologischen Forschung ein grosses und dankbares Feld eröffnet; zahllose neue Fragen harren der Bearbeitung, und der praktischen Medicin erwächst die Aufgabe, die durch das Experiment am Thiere festgestellte Heil- und Schutzwirkung der bakteriolytischen Enzyme (Nucleasen) und Immunproteïdine auch bei menschlichen Infectionskrankheiten zu erproben.

Zur Bekämpfung von Thierseuchen, insbesondere von Milzbrand, dürfte die Pyocyanase- und Pyocyanase-Immunproteïdin-Behandlung sich schon jetzt als erfolgreich erweisen.



[Aus dem von Dr. F. Abba geleiteten bakteriologischen Laboratorium des Turiner städtischen Gesundheitsamtes und dem von Prof. P. Foà geleiteten pathologisch-anatomischen Institut der K. Universität zu Turin.]

Ueber die Filtrationskraft des Bodens und die Fortschwemmung von Bakterien durch das Grundwasser.

Versuche.

Von

Dr. **Francesco Abba**, Dr. **Edmondo Orlandi** und Dr. **Alipio Rondelli**.

In den Monaten März und April 1896 wurde vom Gemeinderath der Stadt Turin im Einverständniss mit der Turiner Trinkwasserversorgungs-Gesellschaft eine aus Hygienikern, Bakteriologen, Chemikern, Ingenieuren und Geologen zusammengesetzte Commission berufen, welche die Beschaffenheit des Bodens oberhalb und zu beiden Seiten der den Anfang der Wasserleitung von Valsangone bildenden Filtergallerien, sowie den Zustand dieser Gallerien und der Wasserleitung studiren sollten. Wir unsererseits wurden von der Subcommission der Hygieniker[1] berufen, die zur Feststellung der wirklichen Sachlage erforderlichen bakteriologischen Untersuchungen auszuführen, über welche wir hier eingehend berichten.

Unsere Hauptaufgabe bestand wesentlich darin, die Filtrationskraft des oberhalb und zu den Seiten der Filtergallerien gelegenen Bodens zu prüfen und zu erforschen, wie weit die durchgesickerten Bakterien vom Grundwasser mit fortgeschwemmt werden, um festzustellen, ob die Verunreinigung dieses Bodens einen Einfluss auf den Bakteriengehalt des in die Gallerien eintretenden Wassers habe, und welchen.

---

[1] Dieselbe war zusammengesetzt aus den Professoren Senator G. Bizzozero, P. Foà, I. Guareschi und M. Zecchini.



I. Untersuchungstechnik.

Wahl des Bakterienmateriales zur Bodenverunreinigung. Das zur Bodenverunreinigung dienende Material musste offenbar aus Reinculturen eines nicht pathogenen und im Turiner Leitungswasser für gewöhnlich nicht vorkommenden Mikroorganismus bestehen; dieser musste ferner eines schnellen Wachsthums auf den gewöhnlichen Nährmitteln fähig sein und sich durch irgend eine Eigenschaft, wie die der Farbstofferzeugung, leicht erkenntlich machen.

Es konnte kein geeigneterer Mikroorganismus gewählt werden, als der Bacillus prodigiosus, der nur sehr selten im Turiner Leitungswasser vorkommt (1 Mal alle 2 oder 3 Jahre) und der alle anderen gewünschten Eigenschaften besitzt. In der That mussten wir vom Gebrauch anderer, ebenfalls einige der erforderlichen Eigenschaften besitzenden chromogener Mikroorganismen absehen, da wir erkannten, dass sie für unsere Zwecke sich nicht so gut eigneten wie der Bacillus prodigiosus.

Bereitung des Bakterienmateriales. Anfangs bereiteten wir Bouillonculturen vom Bacillus prodigiosus in grosser Menge; die Bouillon enthielt auf 1000 ccm gewöhnlichen Wassers 10 grm Liebig'schen Fleischextractes und die zur gewöhnlichen Alkalisirung erforderliche Menge Natriumcarbonat.

Es wurden etwa 20 Liter solcher Bouillon in Flaschen von je 3 Liter Inhalt bereitet und zur Züchtung der Bacillen bei 20 bis 22° C. gehalten. Das Wachsthum war ein schnelles, doch musste man 5 bis 6 Tage warten, ehe die Bouillon anfing, sich rosa zu färben; ausserdem liessen sich die Flaschen nicht so leicht und ohne Gefahr transportiren, weshalb wir zu einem anderen Verfahren greifen mussten.

Wir legten nun viele Kartoffelculturen nach der Esmarch'schen Methode an, schabten den rosa Belag, der schon nach 48 Stunden ein reichlicher war, von den Kartoffeln ab und lösten ihn in wenigen Litern sterilisirten Wassers auf, um dann eine weitere Verdünnung in etwa 20 Liter Wasser an Ort und Stelle vorzunehmen. Diese Methode hatte jedoch den Uebelstand, dass sie keine homogene Flüssigkeit darbot; denn die Bacillen blieben oft an Kartoffelklümpchen haften, so dass ihre Vermischung mit der Flüssigkeit keine gleichmässige war.

Wir nahmen deshalb zu Gelatineplattenculturen unsere Zuflucht, die wir auf folgende Weise bereiteten:

Der ganze Belag einer auf schräg erstarrtem Agar angelegten Cultur wurde in 7 bis 8 ccm sterilisirten Wassers aufgelöst und von der so erhaltenen röthlichen Flüssigkeit wurden einige Tropfen in zahlreiche



Petri'sche Schälchen gethan; nach Hinzufügung von 10 ccm Gelatine, die wir auf die gewöhnliche Weise erstarren liessen, wurden die Culturen einer Temperatur von 20 bis 22° C. ausgesetzt.

Schon nach 12 Stunden erschienen alle Culturen intensiv roth gefärbt und war die Gelatine vollständig geschmolzen; um eine grössere Menge Bacillen zu erhalten, liessen wir die Culturen noch weitere 12 Stunden bei 20 bis 22° C. und gossen dann die geschmolzene Gelatine aus allen Schälchen in einen sterilisirten Glasballon; jedes Schälchen wurde mit 15 bis 20 ccm sterilisirten Wassers ausgespült und dieses dann ebenfalls in den Glasballon gegossen.

Auf diese Weise verfahrend, erhält man in ganz kurzer Zeit eine grosse Menge Reinmaterial, das seine vollständige Entwickelungsfähigkeit besitzt, in einer geringen Menge Flüssigkeit gleichmässig vertheilt, concentrirt und also auch leicht transportirbar ist.

Wahl des zu verunreinigenden Bodens. Wir wählten nun ein 40 bis 50 qm grosses ebenes Terrain, umschrieben dasselbe von drei Seiten mit in den Boden eingerammten Brettern und umgaben diese Bretterwand von aussen mit von einem anderen Orte herbeigeschaffter comprimirter Erde, so dass das Wasser sich auf dem umschriebenen Terrain ansammeln und eine gewisse Höhe erreichen konnte, die wir constant zu erhalten suchten.

Die zu überschwemmende Bodenfläche wurde in keiner Weise verändert; das zur Ueberschwemmung dienende Wasser wurde von irgend einem Wasserlauf hergeleitet, ohne dass wir auf den Grad seiner Verunreinigung achteten.

Verunreinigung des Terrains. Nach vollendeter Vorbereitung des Terrains verdünnten wir die die Bacillen suspendirt enthaltende Flüssigkeit in etwa 20 Liter Wasser und gossen dieses auf die eingeschlossene Bodenfläche, und zwar so, dass die ganze Fläche möglichst gleichmässig benetzt wurde; hierauf nahmen wir die Ueberschwemmung vor.

Um jedoch zu verhindern, dass von der bacillenhaltigen Flüssigkeit durch Spritzen Tropfen auf die die Verunreinigung vornehmende Person gelangten und die Bacillen durch diese selbst in die Filtergallerien gebracht würden, verfuhren wir in folgender Weise:

Wir leiteten zuerst das Wasser auf das umschriebene Terrain, und wenn dieses die obersten Bodenschichten durchtränkt hatte und anfing, einige Centimeter hoch zu steigen, gossen wir dort, wo das Wasser auf das Terrain floss, nach und nach die bacillenhaltige Flüssigkeit in dasselbe; die Glasballons spülten wir dann noch zwei oder dreimal mit dem

zuströmenden Wasser aus und gossen auch dieses Spülwasser hinein. Sobald der Wasserstand etwa 10 cm erreicht hatte, regelten wir den Zufluss derart, dass dieser Wasserstand constant blieb, und dies eine verschiedene Zahl von Stunden lang, je nachdem die Bodenschicht mehr oder weniger hoch und compact, und je nachdem das überschwemmte Terrain mehr oder weniger weit von den Filtergallerien entfernt war.

Gleichzeitig färbten wir das Wasser auf dem Terrain intensiv mit einer auch bei grosser Verdünnung hohe Färbkraft besitzenden Substanz; die besten derartigen Substanzen sind das Methyleosin, welches dem Wasser eine rothe Farbe verleiht, und das Uranin, welches es grün färbt.

Da wir vorher durch im Laboratorium vorgenommene Experimente festgestellt hatten, dass der Bacillus prodigiosus durch die Anwesenheit solcher Substanzen nicht nur nicht in seinem Wachsthum behindert wird, sondern auf intensiv mit Methyleosin und Uranin gefärbten Nährböden gut gedeiht, nahmen wir keinen Anstand, Bacillen und Färbemittel gleichzeitig in das Ueberschwemmungswasser zu thun, und in der That hat sich kein Uebelstand dabei ergeben.

Bakteriologische Untersuchung des filtrirten Wassers. Um betreffs des Ausganges dieser Experimente Schlüsse zu ziehen, brauchte man nur festzustellen, ob und wann der Bacillus prodigiosus aus dem Boden in's Wasser der Filtergallerien gelangt war. Zu diesem Zwecke wurde gleich nach vollzogener Verunreinigung des Bodens, in den ersten 8 bis 12 bis 14 Stunden jede Stunde, und in den darauf folgenden Stunden und Tagen alle 2 oder 3 Stunden die bakteriologische Untersuchung des Wassers vorgenommen.

Züchtungsmaterial zur bakteriologischen Untersuchung des Wassers. Zuerst legten wir zahlreiche Kartoffelculturen nach der Esmarch'schen Methode an, indem wir von dem mit sterilisirter Pipette entnommenen Wasser einige Cubikcentimeter auf die Kartoffeln gossen.[1]

In der Folge, besonders wenn das verunreinigte Terrain von der Gallerie sehr weit entfernt war, griffen wir, um die Vervielfältigung der in sehr verdünntem Zustand in die Gallerie gelangenden Bacillen zu begünstigen, zu folgendem Verfahren:

Wir bereiteten eine concentrirte, pro Liter Wasser 100 grm Liebig'schen Fleischextract enthaltende und stark alkalisirte Bouillon und gossen davon 10 ccm in je eine von zahlreichen, etwa 150 ccm fassenden Röhren.

---

[1] Um nicht in die Gallerien hinabzusteigen und die Verunreinigung des Wassers zu riskiren, bedienten wir uns zur Wasserentnahme des Orlandi'schen Apparates (*Giornale della R. Accademia di medicina di Torino,* 1895, Nr. 6, p. 281).



Sodann entnahmen wir etwa 100 ccm Wasser aus der Gallerie und gossen es in eine dieser Röhren, so dass das Wasser in Nährbouillon umgewandelt wurde; die so gefüllten Röhren wurden hierauf bei 20 bis 22° C. gehalten; nach 24 Stunden war die Flüssigkeit stark getrübt und übelriechend. Nun wurden einige Cubikcentimeter von dieser Flüssigkeit auf nach der Esmarch'schen Methode präparirte Kartoffeln gegossen.

Das Experiment wurde auf diese Weise um einen oder zwei Tage in seiner Dauer verlängert, aber dafür war es zuverlässiger.

Sowohl die direct mit Wasser als die mit Bouillon begossenen Kartoffeln wurden bei 20 bis 22° C. gehalten, und nach 24 bis 48 Stunden sah man, wenn der Bacillus aus dem Boden in's Wasser übergegangen war, die Oberfläche der Kartoffeln, je nach den Fällen, mehr oder weniger mit einem rosa oder intensiv rothen Belag überzogen.

Das Temperaturoptimum für das Wachsthum des Bacillus prodigiosus sahen wir zwischen 20 und 25° C. schwanken; bei 37° C. findet nur kümmerliches Wachsthum statt und verliert der Bacillus seine Färbungskraft fast vollständig.

II. Filtrations- und Bakterientransportversuche.

1. Versuch. — Am 4. März 1896 (s. Figur, Buchst. *A*).

40 qm grosses, rechtwinkliges Wiesenterrain, eingeschlossen von in den Boden eingerammten Brettern, auf der Achse der rechten Gallerie aufwärts von dem Eintrittsloche (Fallthür) Nr. 4.

Der Boden besteht aus folgenden Schichten: 0·15 bis 0·30 m dicke Humusschicht, 1·20 bis 1·50 m dicke Grobsandschicht mit verschieden grossen Kieselsteinen, 0·50 bis 0·70 m dicke Sandschicht mit noch zahlreicheren, etwas cementirten Kieselsteinen, mächtige Bank von Kieselsteinen und mehr oder weniger abgerundeten Felsstücken, deren Hohlräume mit Sand und Feinkies ausgefüllt sind und die der Decke der Gallerie aufliegt.

Um 10 Uhr 30 Min. werden etwa 20 Liter Bouilloncultur von Bacillus prodigiosus, einem chromgelben verflüssigenden Mikrococcus und Sarcina lutea auf das Terrain gegossen.

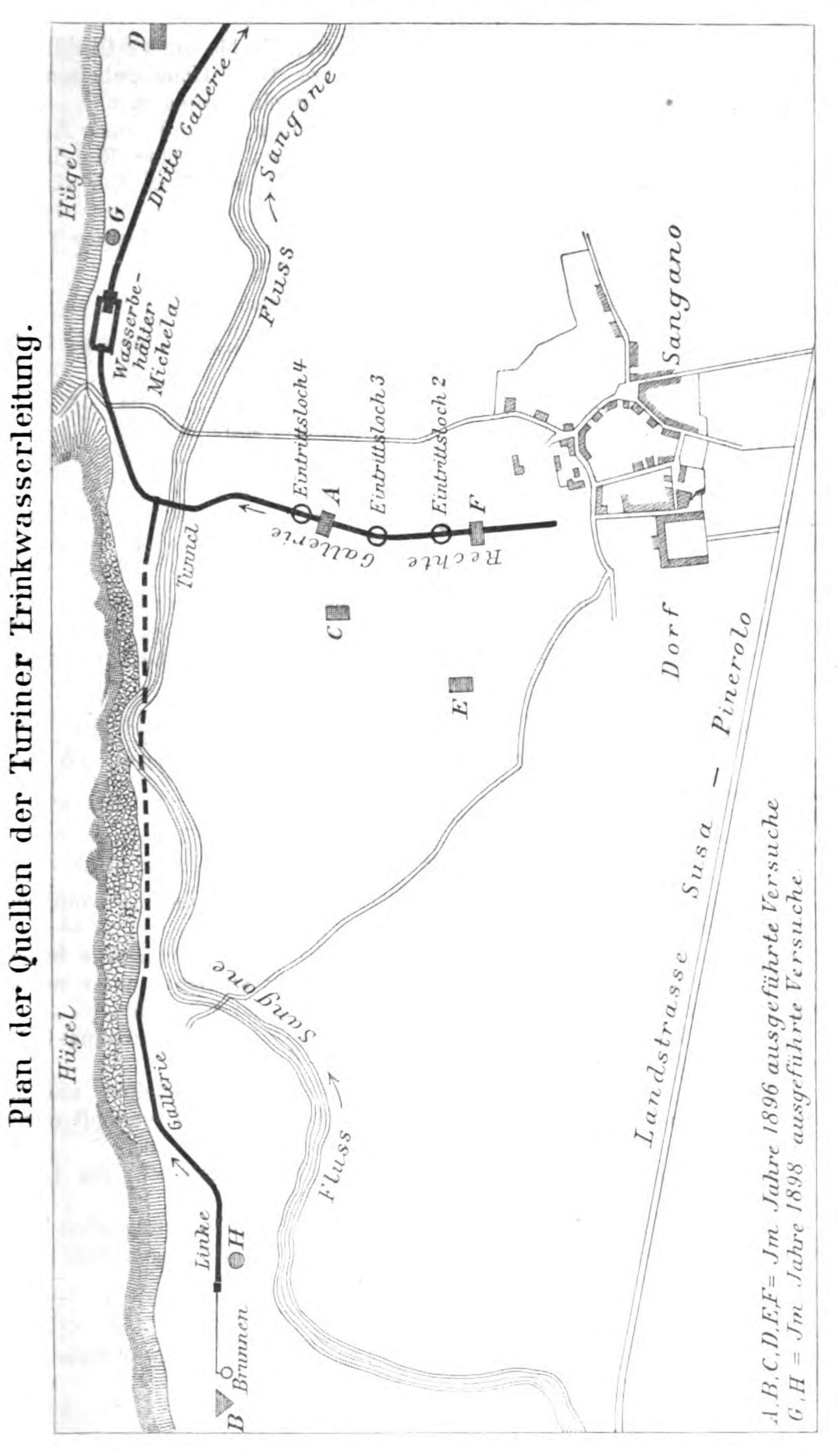
Um 10 Uhr 45 Min. wird von einem nahen Wasserlauf so lange Wasser auf das Terrain geleitet, bis es hier zur mittleren Höhe von 8 cm ansteigt; um 11 Uhr 10 Min. wird die Zuleitung des Wassers eingestellt und um 11 Uhr 30 Min. ist das angesammelte Wasser vollständig in den Boden eingedrungen (der Boden war trocken).

Um 11 Uhr 30 Min. zweite Wasserzuleitung, die bis 11 Uhr 55 Min. dauert; um 12 Uhr 55 Min. ist das Wasser verschwunden.

Um 14 Uhr 30 Min. dritte Wasserzuleitung, die bis 15 Uhr 10 Min. dauert; das Wasser wird in dieser Zeit bis zu 10 cm Höhe gehalten; um 15 Uhr 45 Min. ist alles Wasser verschwunden.



Plan der Quellen der Turiner Trinkwasserleitung.



Um 15 Uhr 55 Min. vierte Wasserzuleitung, die bis um 17 Uhr dauert; das Wasser wird in dieser Zeit wieder bis zu 10 cm Höhe gehalten; um 16 Uhr 25 Min. ist alles Wasser in den Boden eingedrungen.

Gleichzeitig werden mittels sterilisirter, mit dem Orlandi'schen Apparat in Communication stehender Pipette Wasserproben aus dem Eintrittsloch Nr. 4 entnommen und damit Culturen auf Kartoffeln angelegt, d. h. auf jede Kartoffel werden 2 oder 3 ccm von dem Wasser gegossen.

Die Culturen wurden 3 Tage lang (bis zum 7. März) bei einer Temperatur von 18 bis 20° C. gehalten und dann untersucht.

Das Resultat dieses I. Versuches war folgendes:

Am 4. März, um 10 Uhr 45 Min.	—[1]	Am 4. März, um 20 Uhr	+
„ „ „ 11 „	—	„ „ „ 22 „	+
„ „ „ 12 „	+[2]	„ „ „ 24 „	+
„ „ „ 13 „	+	Am 5. März, um 2 „	+
„ „ „ 14 „	+	„ „ „ 4 „	+
„ „ „ 15 „	+	„ „ „ 5 „	+
„ „ „ 16 „	+	„ „ „ 8 „	—
„ „ „ 17 „	+	„ „ „ 10 „	—
„ „ „ 18 „	+	„ „ „ 12 „	—

Hier und da kamen auch der chromgelbe Mikrococcus und die Sarcina lutea zur Entwickelung, jedoch wegen des Ueberhandnehmens des vom Bacillus prodigiosus gebildeten rosarothen Belages in wenig charakteristischer Weise.

Schluss: Der Bacillus prodigiosus ging durch das über der rechten Gallerie gelegene Terrain in 1 Stunde 15 Min. hindurch.

2. Versuch. — Am 11. März 1896 (s. Figur, Buchst. *B*).

25 qm grosses, dreieckiges Wiesenterrain in 12 m Entfernung vom Röhrbrunnen, am Anfang der linken Gallerie.

Der Boden besteht aus folgenden Schichten: etwa 30 cm starke Humusschicht, die einer etwa 1·30 m dicken Sandschicht aufliegt, unter welcher sich eine Schicht von Kieselsteinen, Feinkies und Sand befindet.

Um 14 Uhr werden 18 bis 20 Liter Bacillus prodigiosus-Cultur auf das Terrain gegossen.

Um 14 Uhr 5 Min. wird Wasser auf das Terrain geleitet, nachdem zuvor einige von Maulwürfen gegrabene Gänge mit Schollen verstopft worden sind; das Wasser steigt bis zur mittleren Höhe von 10 cm an.

Um 14 Uhr 15 Min. wird die Wasserzuleitung eingestellt; um 15 Uhr ist alles Wasser in den Boden eingedrungen.

Um 15 Uhr zweite Wasserzuleitung, die bis 12 Uhr des folgenden Tages dauert; das Wasser wird in dieser Zeit bis zu 10 cm Höhe gehalten.

[1] — bedeutet negatives Resultat.

[2] + „ Wachsthum des Bacillus prodigiosus in den Culturen.

Während der Filtration werden aus dem Behälter, in welchen die das Wasser aus dem genannten Brunnen in die linke Gallerie leitende Röhre mündet, Wasserproben entnommen und damit Culturen auf Kartoffeln angelegt.

Die am 15. März vorgenommene Untersuchung derselben ergab folgendes Resultat:

Am 11. März,	um	14	Uhr	—		Am 12. März,	um	1	Uhr	+
„	„	15	„	—		„	„	3	„	+
„	„	16	„	—		„	„	5	„	+
„	„	17	„	—		„	„	7	„	+
„	„	18	„	—		„	„	9	„	+
„	„	19	„	+		„	„	11	„	—
„	„	20	„	+		„	„	12	„	—
„	„	21	„	+						
„	„	23	„	+						

Schluss: Der Bacillus prodigiosus gelangte in 7 Stunden durch das Terrain hindurch in die linke Gallerie.

3. Versuch. — Am 18. März 1896 (s. Figur, Buchst. *C*).

Etwa 70 ^{qm} grosses rechtwinkliges Wiesenterrain, aufwärts von der Achse der rechten Gallerie, auf der Höhe des Eintrittsloches Nr. 4, gedüngten Feldern angrenzend.

Der Boden besteht fast aus den gleichen Schichten wie der zum 1. Versuch benutzte.

Um 10 Uhr 45 Min. werden 20 Liter Bacillus prodigiosus-Cultur auf das Terrain gegossen.

Um 11 Uhr wird Wasser auf das Terrain geleitet und hier bis zu 10 bis 12 ^{cm} Höhe gehalten.

Die Wasserproben zu den Kartoffelculturen wurden aus dem rechten Eintrittsloch des Tunnels entnommen, der, unter den Fluss Sangone gehend, das Wasser der rechten Gallerie in die linke Gallerie leitet; einige Proben wurden auch aus dem Eintrittsloch Nr. 4 entnommen.

Das Resultat war folgendes:

Am 18. März,	um	11	Uhr	—		Am 18. März,	um	22	Uhr		+
„	„	12	„	—		„	„	24	„		—
„	„	13	„	—		„ 19. März,	„	2	„		+
„	„	14	„	—		„	„	4	„		—
„	„	15	„	—		„	„	6	„		—
„	„	16	„	—		„	„	9	„		+
„	„	17	„	—		„	„	11	„	30 Min.	+
„	„	18	„	+		„	„	13	„		+
„	„	20	„	—							



Was die Culturen anbetrifft, die mit dem aus dem Eintrittsloch Nr. 4 entnommenen Wasser angelegt wurden, so beobachteten die Bakteriologen der Gesellschaft in einigen das Wachsthum des Bacillus prodigiosus, wohingegen die Bakteriologen des städtischen Gesundheitsamtes kein Wachsthum desselben beobachteten.

Schluss: Die Thatsache, dass der Bacillus prodigiosus im fliessenden Wasser am Eintrittsloch Nr. 4 gefunden wurde, lässt den Zweifel zu, dass es sich um Bacillen vom 1. Versuch handelte, um so mehr, als das Wachsthum dieser Bacillen auf den Kartoffeln mit Unterbrechungen stattfand und ein spärliches war, und bei einem weiteren mit Farbstoff vorgenommenen Experiment dieser erst nach 40 Stunden in die Gallerie gelangte. Andererseits dürfte jedoch die Thatsache, dass der Bacillus prodigiosus nicht vor 7 Stunden nach Beginn des Experimentes im Wasser der Gallerie angetroffen wurde und in der Folge, wegen der grossen Entfernung des überschwemmten Terrains von der Achse der Gallerie, und weil stark verdünnt, auch nur mit Unterbrechungen und in spärlicher Menge, — dies, sagen wir, dürfte beweisen, dass der 1. Versuch keinen Einfluss auf den 3. gehabt hat. Hierzu kommt noch, dass der Bacillus prodigiosus, an besagter Stelle, nur von einem Theil der Bakteriologen gefunden wurde und auch nicht in allen von ihnen mit jenem Wasser angelegten Culturen, und dass ein späterer mit Farbstoff vorgenommener Versuch (s. 5. Versuch) darthat, dass das Erscheinen der Bakterien, bei weiter Entfernung, dem des Farbstoffes vorauszugehen pflegt.

Der Bacillus prodigiosus war also nach 7 Stunden in die rechte Gallerie gelangt.

4. Versuch. — Am 23. März 1896 (s. Figur, Buchst. *D*).

Etwa 50 ^{qm} grosses, nahezu dreieckiges Wiesenterrain, 27·50 ^{m} von der Achse der dritten Gallerie entfernt, links von dieser und etwa 450 ^{m} von dem Wasserbehälter, genannt Michela, entfernt.

Der Boden besteht aus einer 0·50 ^{m} starken Schicht von sandiger Erde, die in eine bis zu 1·20 ^{m} dicke reine Sandschicht übergeht, unter welcher sich grosse Kieselsteine, vermischt mit sandiger Erde, befinden.

Während dieses Versuches wurde ein grosser Theil des Wassers der rechten Gallerie, sowie das der linken Gallerie abgelassen, damit von den vorhergehenden Versuchen etwa zurückgebliebene Bacilli prodigiosi den Ausgang des neuen Versuches nicht compromittirten.



Um 12 Uhr 40 Min. wird mit der Wasserzuleitung begonnen; das Wasser wird 24 Stunden lang bis zu 10 cm Höhe auf dem Versuchsterrain gehalten.

Um 12 Uhr 45 Min. werden an den zwei Zuflussstellen die Bacillus prodigiosus-Culturen in's Wasser gegossen, so dass die Bacillen auf die Wiese mit fortgeschleppt werden und sich gleichmässig im Wasser vertheilen.

Die Wasserproben werden an zwei Eintrittslöchern aus der Gallerie entnommen, nämlich aus dem etwa 20 m entfernten Eintrittsloch Nr. 6 und der etwa 400 m thalabwärts sich befindenden, Cucca genannten.

Die Untersuchung der aus dem Eintrittsloch Cucca entnommenen Wasserproben ergab folgendes Resultat:

Am 23.	März,	um	12	Uhr	15	Min.	—
„	„	„	16	„	20	„	—
„	„	„	17	„	30	„	—
„	„	„	19	„	30	„	+
„	„	„	23	„	30	„	+
Am 24.	März,	um	4	„	30	„	+
„	„	„	8	„			+
„	„	„	10	„	30	„	+

Die Untersuchung der aus dem Eintrittsloch Nr. 6 entnommenen Wasserproben ergab folgendes Resultat:

Am 23.	März,	um	16	Uhr	15	Min.	—
„	„	„	17	„	20	„	—
„	„	„	19	„	30	„	+
„	„	„	23	„	30	„	+
Am 24.	März,	um	4	„	30	„	—
„	„	„	8	„			+
„	„	„	10	„	45	„	—

Schluss: Der Bacillus prodigiosus war in etwa 7 Stunden in die dritte Gallerie gelangt.

5. Versuch. — Am 28. März 1896 (s. Figur, Buchst. *E*).

Etwa 200 qm grosses Wiesenterrain von unregelmässiger Form, ungefähr 200 m aufwärts von der Achse der rechten Gallerie, auf der Höhe des Eintrittsloches Nr. 2.

Der Boden besteht fast aus den gleichen Schichten, wie der zum 1. Versuch benutzte.

Um 11 Uhr 15 Min. werden 20 Liter Bouilloncultur des Bacillus prodigiosus in das auf das Terrain gelassene Ueberschwemmungswasser gegossen.

Um 11 Uhr 20 Min. werden 4 kg Uranin im Ueberschwemmungswasser aufgelöst; die Ueberschwemmung wird vom 28. März bis zum 2. April unterhalten. Das Wasser erreichte an gewissen tieferen Stellen eine Höhe von 20 cm.



Die Wasserproben wurden zuerst in Bouillon umgewandelt und diese dann auf Kartoffeln gegossen. Nach 24 stündigem Wachsthum, wie bei den vorhergegangenen Versuchen, ergab die Untersuchung folgendes Resultat:

Datum	Eintrittsloch Nr. 1	Eintrittsloch Nr. 2	Eintrittsloch Nr. 3	Eintrittsloch Nr. 4
28. März	—	—	—	—
29. „	—	—	—	—
30. „	—	+	+	—
31. „	—	+	+	—
1. April	—	+	+	—
2. „	—	—	+	—
3. „	—	—	+	—
4. „	—	—	+	—
6. „	—	—	+	—

Schluss: Der Bacillus prodigiosus war nach 42 Stunden in's Wasser der rechten Gallerie gelangt, während der Farbstoff erst nach 75 Stunden hier angetroffen wurde.

6. Filtrationsversuche mit Meteorwasser (s. Figur, Buchst. *F*).

Etwa 15 ^{qm} grosses, unregelmässig begrenztes Terrain auf der Achse der rechten Gallerie, 20 ^{m} aufwärts vom Eintrittsloch Nr. 2.

Am 9. Mai 1896, um 18 Uhr, werden etwa 20 Liter Bouilloncultur des Bacillus prodigiosus auf das Terrain gegossen; um 19 Uhr starker Regenguss, dem ein leichter, bis zum Morgen des 10. Mai anhaltender Landregen nachfolgt. Regenhöhe 43 ^{mm}.

Schluss: Aus den an den Eintrittslöchern Nr. 2 und 3 entnommenen Wasserproben fand am 10. und 11. Mai keine Entwickelung des Bacillus prodigiosus statt, trotzdem zu dessen leichterer Vervielfältigung Culturen in Bouillon angelegt wurden.

Der Bacillus prodigiosus wurde jedoch am 7., 9. und 12. Juni 1896 in den in der Stadt entnommenen Wasserproben angetroffen (etwa 19 ^{km} entfernt von der Filtrationsstelle), und zwar ohne dass ein Kunstmittel zu dessen Vervielfältigung angewendet worden wäre, d. h. etwa 1 Monat nach dem letzten Filtrationsversuche und nachdem es 18 Tage hinter einander geregnet hatte. Es wuchsen aber nur spärliche Colonieen. Er wurde im Leitungswasser der Stadt ferner 9 Mal im Monat October, der sehr regnerisch war, sowie am 3. November desselben Jahres wieder angetroffen; während des grössten Theiles (April bis October) des Jahres 1897 dann nicht mehr, weil Wasser anderer Herkunft (Millefonti) in die Leitung eingelassen worden war. Im Jahre 1898 trafen wir ihn nach längeren Regenperioden, am 18. April und 26. Mai bei den gewöhnlichen täglichen bakteriologischen Untersuchungen des Leitungswassers wieder an.

7. Neue Filtrations- und Bakterienverschleppungsversuche.[1]

Im September 1898 nahmen wir neue Versuche vor, um festzustellen, ob einige auf dem Terrain zu den Seiten der Gallerien sich verbreitende Oberflächenwässer mit den in ihnen enthaltenen Keimen in das Leitungswasser sickerten. Zu diesem Zwecke gossen wir in der Nacht vom 20. zum 21. September, an der Stelle *G* (s. die Figur) nahe der dritten Gallerie, sowie an der Stelle *H* nahe der linken Gallerie, Prodigiosus-Culturen aus. An diesen beiden Stellen war der Boden reichlich mit Wasser von zwei oberflächlichen Rinnsalen durchtränkt.

Ungefähr 48 Stunden lang wurden in Turin bakteriologische Untersuchungen des Wassers vorgenommen; das Resultat war folgendes:

Am 21. September, um 3 Uhr: Aussäung des Bacillus prodigiosus. Resultat der in der Stadt vorgenommenen Untersuchung des Wassers:

Am 21. Septbr., um	9 Uhr	—	Am 22. Septbr., um	14 Uhr	—
„ „ „	12 „	—	„ „ „	16 „	+
„ „ „	14 „	—	„ „ „	20 „	—
„ „ „	16 „	—	Am 23. Septbr., um	9 „	+
„ „ „	18 „	—	„ „ „	11 „	+
Am 22. Septbr., um	8 „	—	„ „ „	12 „	—
„ „ „	10 „	+	„ „ „	14 „	—
„ „ „	11 „	+	„ „ „	16 „	—
„ „ „	12 „	—	„ „ „	20 „	—

Schluss: Der auf dem genannten Boden nahe der dritten und der linken Gallerie gesäte Bacillus prodigiosus drang mit dem Ueberschwemmungswasser in die Gallerien und wurde bei der in der Stadt vorgenommenen Untersuchung, nach 31 Stunden, angetroffen (Entfernung 19^{km}).

III. Bakteriologische Untersuchung der Böden, auf denen die Filtrationsversuche vorgenommen wurden.

Am 10. Februar 1896.

1. Ausgrabung auf der Achse der rechten Gallerie, aufwärts von dem Eintrittsloch Nr. 2.

Die Bodenprobe wird mit sterilisirten Spateln in sterilisirte Gläschen gebracht; zur bakteriologischen Untersuchung wird $^1/_2$ ^{ccm} Erde mit 100 ^{ccm} sterilisirten Wassers verdünnt, sodann werden mit $^1/_{10}$ ^{ccm} dieser Mischung Culturen auf Gelatine angelegt.

In den oberflächlichen Bodenschichten werden sehr zahlreiche Bakterien verschiedener Arten angetroffen, vorwiegend jedoch der Wurzelbacillus, der bei $1 \cdot 60^{m}$ Tiefe aufhört; bei dieser Tiefe sind die Bakterien spärlicher, bei $2 \cdot 70^{m}$ Bodentiefe sehr spärlich. Sowohl auf der Oberfläche des Bodens als in der grössten untersuchten Tiefe ist der Bacillus coli anwesend.[2]

---

[1] An diesem Versuche nahm Dr. Orlandi nicht Theil.

[2] Er wurde nach der Abba'schen Methode (s. *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde*, Bd. XIX, S. 13) nachgewiesen.

2. **Ausgrabung auf der Achse der rechten Gallerie, aufwärts von dem Eintrittsloch Nr. 4.**

Die bakteriologische Untersuchung der hier gesammelten Bodenproben führt zu denselben Resultaten wie oben.

3. **Ausgrabung auf der rechten Seite der linken Gallerie, bis zu 2·50 m Tiefe.**

Der bakteriologische Befund ist fast der gleiche wie bei den anderen beiden Ausgrabungen.

Am 10. April 1896.

1. **Bakteriologische Untersuchung des Bodens in 70 m Entfernung von der Achse der rechten Gallerie**; es ist dasselbe Terrain, das am 18. März (s. 3. Filtrationsversuch — Figur, Buchst. *C*) überschwemmt wurde:

Bodentiefe m	Anzahl der Bakteriencolonieen pro 1 ccm Erde	Anzahl der verflüss. Colonieen pro 1 ccm	Vorherrschende Arten
0·06	2 084 000	292 000	
0·25	604 000	194 000	Wurzelbacillus.
0·40	180 000	36 000	Oospora Metchnikovii, Wurzelbacillus.
1·20	64 000	10 000	desgl.
1·80	66 000	6 000	Bacillus prodigiosus.
2·20	62 000	4 000	Oospora Metchnikovii.
2·80	[1]	36 000	Bacillus prodigiosus, Oospora Metchnikovii.

2. **Bakteriologische Bodenuntersuchung in 200 m Entfernung von der Achse der rechten Gallerie**; das betreffende Terrain wurde am 28. März (s. 5. Filtrationsversuch — Figur, Buchst. *E*) überschwemmt.

Bodentiefe m	Anzahl der Bakteriencolonieen pro 1 ccm Erde	Anzahl der verflüss. Colonieen pro 1 ccm	Vorherrschende Arten
0·05	1 042 000	166 000	
0·20	850 000	146 000	
1·00	220 000	50 000	Wurzelbacillus.
1·50	152 000	14 000	
2·00	46 000	4 000	Bacillus prodigiosus.
2·60	77 000	6 000	
3·00	50 000	5 000	Bacillus prodigiosus.

[1] Die nicht verflüssigenden Colonieen konnten nicht gezählt werden, weil zu spärlich im Vergleich zu den verflüssigenden, fast ausschliesslich aus Colonieen des Bacillus prodigiosus bestehenden.



3. **Bakteriologische Bodenuntersuchung**, aufwärts von dem Brunnen; das betreffende Terrain wurde am 11. März (s. 2. Filtrationsversuch — Figur, Buchst. *B*) überschwemmt.

Bodentiefe m	Anzahl der Bakteriencolonieen pro 1 ccm Erde	Anzahl der verflüss. Colonieen pro 1 ccm	Vorherrschende Arten
0·06	1 100 000	114 000	
0·20	720 000	126 000	
0·30	318 000	12 000	
1·00	96 000	12 000	Wurzelbacillus.
1·40	202 000	10 000	Bacillus prodigiosus.
1·80	62 000	10 000	desgl.
2·20	62 000	4 000	

IV. Persistenz des Bacillus prodigiosus in den überschwemmten Böden.

1. **Untersuchung.** Ausgrabung auf dem 200 m von der Achse der rechten Gallerie entfernten Terrain (s. 5. Filtrationsversuch — Figur, Buchst. *E*).

Die mit sterilisirten Spateln in sterilisirte Gläschen gebrachte Erde wurde zuerst in Bouillon bei 20 bis 22° C. gehalten, mit welcher dann Kartoffeln beschickt wurden.

Am 28. März 1896: Ueberschwemmung des Terrains.

Am 7. April 1896: 1. Untersuchung, die folgendes Resultat ergab:

Bei 0·10 m Bodentiefe	
„ 0·20 „	ziemlich spärliches Wachsthum des Bacillus prodigiosus.
„ 0·40 „	
„ 0·80 „	
„ 1·20 „	
„ 1·80 „	
„ 2·00 „	sehr reichliches Wachsthum des Bacillus prodigiosus.
„ 2·60 „	
„ 3·00 „	

Am 9. Mai: 2. Untersuchung, die folgendes Resultat ergab:

Bei 0·15 m Bodentiefe: sehr spärliches Wachsthum des Bac. prodig.
„ 0·60 „ reichliches „ „ „ „
„ 1·20 „ etwas weniger reichl. „ „ „ „
„ 2·00 „ wenig reichliches „ „ „ „

2. **Untersuchung.** Ausgrabung auf dem 70 m von der Achse der rechten Gallerie entfernten Terrain (s. 3. Filtrationsversuch — Figur, Buchst. *C*).

Am 18. März 1896: Ueberschwemmung des Terrains.



Am 7. April 1896: Untersuchung, die folgendes Resultat ergab:

Bei	0.12 m	Bodentiefe:	spärliches	Wachsthum	des	Bac.	prodigiosus.	
„	0·30	„	„	„	„	„	„	
„	0·70	„	reichliches	„	„	„	„	
„	1·00	„	„	„	„	„	„	
„	1·20	„	„	„	„	„	„	
„	1·60	„	weniger reichl.	„	„	„	„	
„	1·80	„	sehr reichliches Wachsthum. (Die Erde wurde am 10. April entnommen.)					
„	2·20	„						
„	2·60	„						

3. Untersuchung. Ausgrabung auf dem aufwärts vom Brunnen gelegenen Terrain (s. 2. Filtrationsversuch — Figur, Buchst. *B*).

Am 11. März 1896: Ueberschwemmung des Terrains.

Am 7. April 1896: 1. Untersuchung, die folgendes Resultat ergab:

Bei	0·20 m	Bodentiefe:	ziemlich reichliches	Wachsthum	des	Bac.	prodig.
„	0·40	„	„ „	„	„	„	„
„	0·60	„	noch reichlicheres	Wachsthum	„	„	„
„	1·00	„	„ „	„	„	„	„
„	1·50	„	sehr reichliches	„	„	„	„
„	2·00	„	reichliches	„	„	„	„
„	2·20	„	„ (Probe am 10. April entnommen.)				

Am 11. Mai 1896: 2. Untersuchung, die folgendes Resultat ergab:

Bei	0·10 m	Bodentiefe:	reichliches	Wachsthum	des	Bac.	prodigiosus.
„	0·20	„	zieml. reichliches	Wachsthum	des	Bac.	prodig.
„	0·60	„	„ „	„	„	„	„
„	0·85	„	spärliches	„	„	„	„
„	1·20	„	„	„	„	„	„
„	1·50	„	sehr reichliches	„	„	„	„
„	2·00	„	„ „	„	„	„	„
„	2·50	„	„ „	„	„	„	„

Schluss: Aus diesen Versuchen geht hervor, dass der um die Gallerien herum ausgesäte Bac. prodigiosus nach 2 Monaten noch im Boden anwesend und lebensfähig war und im Allgemeinen in den tieferen Bodenschichten in reichlicherer Menge sich fand.

Die Thatsache ferner, dass er am 18. April und 25. Mai 1898 in Turin im Leitungswasser angetroffen wurde, beweist, dass er noch nach 2 Jahren im Boden anwesend und lebensfähig war.



V. Schlussfolgerungen.

Das oben Dargelegte kurz zusammenfassend, können wir mit Bezug auf die befolgte Technik folgende Sätze aufstellen:

1. Einer der geeignetsten Mikroorganismen zur Prüfung der Filtrationskraft der natürlichen Böden ist der Bacillus prodigiosus.

2. Am schnellsten und leichtesten verschafft man sich viel Bakterienmaterial, wenn man zahlreiche Gelatineplatten mit dem Bacillus prodigiosus beschickt und die verflüssigte Gelatine, sowie das Spülwasser der Culturen in Glasballons giesst.

3. Bei Filtrationsversuchen mit dem Bacillus prodigiosus können gleichzeitig auch Farbstoffe verwendet werden, da diese keinen Einfluss auf die Vitalität jenes Mikroorganismus haben.

4. Bei Filtrationsversuchen, die in grosser Entfernung von dem zu verunreinigenden Wasser vorgenommen werden, ist die bakteriologische Methode zuverlässiger als die physikalische, weil die Bakterien früher als der Farbstoff im Wasser erscheinen oder, besser gesagt, früher als so viel Farbstoff hinein gelangt ist, dass er sich dem Auge erkenntlich macht.

5. Der Bacillus prodigiosus verbleibt sehr lange im Boden, selbst in den tiefsten Bodenschichten, und unter den gewöhnlichen Bedingungen wird er entweder gar nicht in die Wassergallerien geschleppt oder in solcher Verdünnung, dass er bei den täglich vorgenommenen bakteriologischen Untersuchungen des Wassers sich nicht kundthut; dagegen kann er nach längeren Regenperioden oder nach Irrigationen in's Wasser gelangen und so ein werthvoller Fingerzeig werden zur Feststellung des Einflusses, den die localen Meteorwässer oder die künstlich auf das Terrain der Gallerien (zwecks Vermehrung des Wassers in denselben) geleiteten Wässer auf das normaler Weise in diese eintretende Trinkwasser haben.

Ueber diese unsere Versuche veröffentlichten wir im Juli 1896 einen Bericht,[1] und einen kurzen Auszug aus demselben ebenfalls in demselben Jahre.[2] 1897 hat dann Prof. E. Pfuhl einen Artikel über denselben Gegenstand publicirt,[3] in welchem er erklärt, dass ihm bis jetzt



[1] *Gazzetta medica di Torino.* Nr. 28.

[2] *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde.* Bd. XXI. S. 824.

[3] Ueber die Verschleppung von Bakterien durch das Grundwasser. *Diese Zeitschrift.* 1897. Bd. XXV. S. 549ff.

keine genaueren Untersuchungen über die Fortschleppung von Bakterien durch den Grundwasserstrom bekannt geworden sind und die Frage noch nicht entschieden sei.

Offenbar sind also die im Winter und Frühling 1896 von uns ausgeführten Untersuchungen Hrn. Pfuhl bis Ende 1897 unbekannt geblieben.

Die Untersuchungen Pfuhl's fanden im Kiesboden der mittelrheinischen Ebene, in der Nähe des Strassburger Wasserwerkes statt. Er liess zwei 1 m tiefe Gruben auswerfen, die eine 8 m abwärts von der anderen, in der Richtung des Grundwasserstromes. Die Mächtigkeit der oberflächlich gelegenen, mehr oder weniger mit Kieselsteinen vermischten alluvialen Sandschichten betrug an der oberen Grube 70 cm und an der abwärts gelegenen 80 cm. Der darunter befindliche Kiesboden bestand aus dicht an einander gelagerten grösseren und kleineren Kieseln, deren Poren mit Sand von verschiedener Korngrösse gefüllt waren. Das Porenvolumen betrug 26·8 bis 30 Procent. Das Wasser stand 50 cm tief unter dem Grubenrand.

Zu den Versuchen bediente er sich zweier Bakterienarten, nämlich eines leuchtenden Vibrios und des Micrococcus prodigiosus. Mit dem Wasser der aufwärts gelegenen Grube vermischte er $^1/_2$ Liter einer Bouilloncultur von leuchtenden Vibrionen und fügte nach einer Stunde noch $^1/_2$ Liter Prodigiosus-Bouilloncultur hinzu.

Die Fortbewegung dieser Bakterien überliess er nicht dem Grundwasserstrom allein, sondern schöpfte noch mittels einer Pumpe Wasser aus der abwärts gelegenen Grube, um, wie er sagt, die Verhältnisse ähnlich zu gestalten, wie bei der mehrere Hundert Meter aufwärts gelegenen Pumpstation des Strassburger Wasserwerkes.

Innerhalb einer Stunde nach Beimischung der Prodigiosus-Bouilloncultur entnahm er drei Wasserproben und begoss mit diesen je drei Gelatineplatten; aber nur auf den Platten der letzten Probe fand Wachsthum des Bacillus statt.

Zur Untersuchung auf leuchtende Vibrionen entnahm er mehrere Proben innerhalb zweier Stunden nach erfolgter Beimischung.

Diese Proben vermischte er mit 1 Proc. Pepton und $^1/_2$ Proc. Kochsalz und vertheilte sie auf 5 Kölbchen; nachdem diese etwa 12 Stunden im Brütschrank gestanden hatten, nahm er einige Tröpfchen von der Oberfläche der Flüssigkeit und strich sie auf Agarplatten aus. Aber nur auf den Platten der letzten Proben fand er Colonieen von leuchtenden Vibrionen.

Nachdem er so nachgewiesen, dass der Bac. prodigiosus in 1 Stunde und die leuchtenden Vibrionen in 2 Stunden den 8 m langen Weg im Boden zurückgelegt hatten, schliesst er, dass dies auch für die Choleravibrionen gelten dürfte und dass in dem Kiesboden, der in manchen Flussthälern vorkommt, die Bakterien noch weiter als 8 m verschleppt



werden können, namentlich wo die Absenkung des Grundwasserspiegels noch grösser ist.

Dieselben Versuche machte er dann mit Abessinierbrunnen. Er liess einen Abessinier so tief einschlagen, dass er 60 cm im Wasser steckte. Nach $^1/_2$ stündigem Abpumpen gab dieser klares Wasser. Nun liess er 3·70 m weiter aufwärts einen Graben quer zum Grundwasserstrom ziehen, der das Wasser so weit freilegte, dass es im Graben 5 bis 10 cm hoch stand.

Hierin goss er $^1/_2$ Liter Prodigiosus-Bouilloncultur. Bald nach Beginn des Pumpens fing das Wasser im Graben zu sinken an, und als 250 Liter in $7^1/_2$ Minuten abgepumpt waren, war die Prodigiosuscultur in den Boden hineingesogen. In fünf nach jeden 100 Litern entnommenen Wasserproben konnte der Bacillus prodigiosus nicht nachgewiesen werden. Als er am nächsten Tage weiter pumpen liess, trat nach dem Abpumpen von 500 Litern der Bacillus auf den Platten auf.

Bei weiteren Versuchen, meint er, werde eine Verschleppung auf noch grössere Strecken gefunden werden, namentlich wenn man leuchtende Vibrionen verwendet.

Dies sind, kurz zusammengefasst, die Versuche Pfuhl's.

Wie man sieht, sind dieselben im Wesentlichen sogen. Laboratoriumsversuche, aus denen er selbst keine praktischen Schlüsse gezogen hat. Wir dagegen wendeten unsere Versuche zum Nachweis des Eintritts von Oberflächenwässern in die Wasserleitung der Stadt Turin an.

Es handelte sich, wie wir sahen, darum, festzustellen, ob die Verunreinigung des um die Quellen der Wasserleitung herum gelegenen Bodens irgend einen Einfluss auf den Bakteriengehalt des Wassers haben und eine Gefahr der Verunreinigung für dasselbe bilden könne.

Wenn wir auch im Grunde genommen dasselbe Ziel hatten wie Pfuhl, so gingen wir doch, da wir uns bei unseren Experimenten möglichst dem Vorgang in der Natur nähern mussten, von einem anderen Grundgedanken aus.

Wenn wir, wie Pfuhl es gethan hat, aufwärts von den Filtergallerien eine Grube bis zur Freilegung des Wassers ausgeworfen, hier die Bakterien hinein gesät und dann von den Gallerien aus einen beschleunigten Zufluss von Wasser bewirkt hätten, so würde uns dies wie ein wenig Interesse bietender Versuch vorgekommen sein, denn wir würden uns in zu künstliche Verhältnisse gesetzt, wir würden einen zu directen Verbindungsweg geschaffen haben.

Es schien uns, und derselben Ansicht sind wir auch heute noch, dass, wie sehr auch ein Grundwasserstrom pathogene Keime selbst auf grosse Strecken zu verschleppen vermag, dies an und für sich noch keinen schweren Uebelstand ausmache, wenn die Beschaffenheit des darüber ge-



legenen Bodens dessen Verunreinigung nicht gestattet. Wir suchten also bei unseren Versuchen alle, den Grundwasserstrom schützenden natürlichen Verhältnisse zu respectiren und die oberflächlichen Bodenschichten, auf denen die Untersuchungen stattfinden sollten, intact zu erhalten. Statt Gruben auszuwerfen, umschrieben wir das Untersuchungsterrain mit Wällen von eigens dazu herbeigeschaffter Erde.

Das so abgegrenzte Terrain überschwemmten wir mit einer reichlichen Menge Wasser und in dieses säten wir die Bakterien, die wir dann, in verschiedenen Zeitabschnitten, im Wasser der Filtergallerien aufsuchten, ohne die natürlichen Verhältnisse durch Anwendung von Pumpen oder anderen Aufsaugungsapparaten zu stören.

Mit solchen Versuchen glaubten wir nicht nur die Möglichkeit der Verschleppung von Mikroorganismen auf weite Strecken, sondern auch das Bestehen einer Verunreinigungsgefahr von Seiten des über und zu den Seiten des Grundwasserstromes gelegenen Bodens nachweisen zu können; und in der That konnten wir bei einem unserer Versuche (5-*E*-Versuch) den Durchgang des 200 m aufwärts von einer Filtergallerie auf den Boden ausgesäten Bacillus prodigiosus feststellen.

Betreffs der Bakterienart, die zu den Versuchen dienen sollte, zogen wir, nachdem wir es mit verschiedenen Varietäten versucht hatten, den Bac. prodigiosus vor, der sich am leichtesten in grossen Mengen züchten und im Wasser auch dann nachweisen lässt, wenn er hier nur in spärlicher Menge vorhanden ist. Denn für derartige Versuche ist es wünschenswerth, dass der Mikroorganismus sich sehr leicht nachweisen lasse, dass er nicht nur eine gewisse Lebenszähigkeit besitze, sondern seine biologischen Merkmale in den tieferen Bodenschichten auch lange bewahre.

Pfuhl scheint einem leuchtenden Vibrio den Vorzug zu geben; wenn er jedoch seine Untersuchungen statt wenige Stunden, Monate und Jahre lang, wie wir, hätte hinziehen müssen, wissen wir nicht, ob er noch derselben Ansicht geblieben wäre. Denn der im März und April 1896 von uns ausgesäte Bacillus prodigiosus kommt auch jetzt noch, dann und wann, nach längeren Regenperioden im Tuirner Leitungswasser zum Vorschein.

Ohne den Werth der Pfuhl'schen Versuche herabsetzen zu wollen glauben wir doch für Proff. Bizzozero und Foà, sowie für uns selbst in Anspruch nehmen zu müssen, dass von uns zuerst praktische Versuche zum Nachweis des Durchganges von Oberflächenwässern in das Leitungswasser einer grossen Stadt, sowie der Möglichkeit der Verschleppung von Bakterien auf weite Strecken durch den Grundwasserstrom ausgeführt wurden, und dass wir so für die Entscheidung einer Frage, die mit jener der Trinkwasserversorgung bewohnter Centren direct zusammenhängt, den einzuschlagenden Weg angegeben haben.



[Aus dem hygienischen Institut zu Halle a/S.]

Ein pleomorphes Bacterium.

Von

S. Hashimoto
aus Sapporo (Japan).

Die einst so heiss umstrittene Frage von der Vielförmigkeit, dem Pleomorphismus der Bakterien hat in unseren Tagen viel von ihrem früheren Gewicht verloren. In den Anfangszeiten der Bakteriologie freilich, wo die Gestalt der Mikroorganismen nahezu das einzige Mittel war, sie zu erkennen und von einander abzugrenzen, erschien der Wechsel der Form gleichbedeutend mit einem Wechsel der Art, verwirrte sich das Problem des Pleomorphismus mit dem der Variabilität, und da sich bei dieser letzteren die Geister schieden und ein erbitterter Kampf der Meinungen entbrannte, so wurde auch jener von dem nämlichen Geschick betroffen und lange zum Gegenstand leidenschaftlicher Erörterungen. Heute sind diese Stürme ruhigerer Auffassung gewichen An dem Bestehen fester, selbständiger Arten zweifelt Niemand mehr, und biologische Merkmale, namentlich das Verhalten auf unseren künstlichen Nährböden und in den Säften des thierischen Körpers, ermöglichen uns eine sehr viel schärfere und bessere Trennung, als die morphologischen Eigenschaften. Gestützt auf diese sicheren und zuverlässigen Kennzeichen haben wir auch in einer immer grösseren Zahl von Fällen innerhalb der gleichen Art gewisse Schwankungen der Form wahrnehmen können und die nach allen sonstigen Erfahrungen auf diesem Gebiete eigentlich selbstverständliche Thatsache festgestellt, dass auch die Bakterien nicht mit ehernen Ketten an eine und stets dieselbe starre Gestalt geschmiedet sind, sondern dass sie wie so viele andere Lebewesen nicht selten einen weiteren Formenkreis durchlaufen und namentlich den Einfluss wechselnder Entwickelungsbedingungen auch in ihrem morphologischen Verhalten



widerspiegeln. Freilich ist diese Fähigkeit oder Neigung der einzelnen Arten, auf äussere Reize in der eben angedeuteten Weise zu antworten, eine ungemein verschiedene. Wir kennen manche Mikrobien, wie z. B. den Staphylococcus pyogenes aureus, die mit unverbrüchlicher Treue die einmal überkommene Gestalt bewahren, und wieder andere, wie den Pestbacillus, die schon durch leichte Anstösse aus dem Gleichgewicht gebracht werden können und sich deshalb bald unter diesem, bald unter jenem Bilde darstellen. Aber selbst bei den der letzteren Klasse angehörigen labileren Mikroorganismen pflegen sich die Schwankungen doch noch in relativ engen Schranken zu halten. In den weitaus meisten Fällen handelt es sich in der That nur um Uebergänge, die sich zwischen unbeweglichen Kurzstäbchen und Kokken vollziehen, also an einer Grenze abspielen, die an sich so wenig deutlich und scharf, dass es bekanntlich häufig genug geradezu Geschmackssache ist, ob man eine bestimmte Art von vornherein den einen oder den anderen zurechnen will und gewisse Willkürlichkeiten bei der Einordnung und Benennung kaum zu vermeiden sind.

Unter diesen Umständen erscheint es nicht unberechtigt, im Folgenden die kurze Beschreibung eines Mikroorganismus zu geben, dessen Formwechsel sich weit über das sonst von zuverlässigen Beobachtern ermittelte Maass erhebt.

Das betreffende Bacterium stammte von einer Agarplatte, die mit schlecht sterilisirter und nach mehrtägigem Aufenthalt im Brütschrank zersetzter Milch angefertigt worden war. Bei der Untersuchung einer durch ihr gelbes Pigment ausgezeichneten Colonie fanden sich im hängenden Tropfen kleine bewegliche Stäbchen, die bei ihren weiteren Uebertragungen auf andere Nährböden die gleich genauer zu schildernden Veränderungen in ihrem morphologischen Verhalten hervortreten liessen. Auf Agar entwickelten sich, wie eben bemerkt, kurze, aber doch zweifellose und sofort als solche erkennbare Stäbchen, deren Durchmesser in der Länge denjenigen in der Quere um mindestens das Doppelte übertraf. Die einzelnen Glieder sind beweglich, häufig freilich ist die Ortsveränderung auch in jungen Culturen nur eine sehr geringfügige, auf wenige Zellen beschränkt, in anderen Fällen lebhaft und rege, ohne dass es mir bisher gelungen wäre, den Grund für diesen Unterschied in gehöriger Weise aufzuklären. Als Werkzeuge für die Bewegung besitzt der Bacillus Geisselfäden, die sich nach Löffler, ebenso nach Coerner-A. Fischer [1], sowie nach dem jüngst von Muir [2] beschriebenen Verfahren unschwer

[1] Abel, *Taschenbuch für den bakteriolog. Praktikanten.* S. 47.

[2] *Journ. of Path. and Bact.* V. p. 374.



zur Darstellung bringen lassen und den Enden der Stäbchen in mehreren, meist 2 bis 3 Exemplaren angeheftet sind. Wie auf Agar oder Glycerinagar entwickelt sich das Bacterium im Allgemeinen auch auf einfachem oder Zuckerserum. Verpflanzt man es aber in flüssige Nährböden, namentlich in Bouillon, so wird das Bild ein völlig anderes. Hier entstehen lange Ketten aus dicken und plumpen unbeweglichen Kugeln, die oft zu 10 bis 20 einzelnen Stücken aneinander gefügt sind und durchaus den Eindruck grosser Streptokokken hervorrufen. Bei genauerer Prüfung freilich macht sich nicht selten eine sehr bemerkenswerthe Abweichung geltend. Die Theilung der Glieder nämlich erfolgt nicht nur in der zur Längsaxe der Kette senkrechten Ebene, sondern auch parallel mit derselben, d. h. die Bakterien lassen auch in der Richtung von hinten nach vorn eine mehr oder weniger ausgeprägte Furchung und Einschnürung erkennen, die dann zur Entwickelung von zwei neben einander liegenden jungen Elementen führt. Unter Umständen kann dann jedes von diesen letzteren nun wieder zum Ausgangspunkt für eine neue Kette werden, und es kommt dann zu einer Art von Pseudoramifikation, von vermeintlicher Verzweigung, indem aus einem solchen Endglied zwei neben einander verlaufende Reihen hervorspriessen. Eine solche Längstheilung ist ja gerade bei den Kugelbakterien durchaus kein unerhörtes Ereigniss und findet sich zuweilen auch bei den zur Kettenbildung neigenden Arten, so bei dem von Weichselbaum und Jäger beschriebenen Meningococcus intracellularis, namentlich aber nach den Untersuchungen von Babes,[1] Stolz[2] u. s. w. auch bei den gewöhnlichen Pneumo- und Streptokokken, bei denen sogar die eben erwähnte Verästelung gleichfalls vorkommt. Unser Mikroorganismus aber verfügt noch über eine weitere Möglichkeit: er lässt eine dritte Ebene in den Vorgang der Vervielfältigung eingreifen und erscheint daher zuweilen in der Gestalt der echten Sarcinen, erzeugt also Waarenballen ähnliche Packete, die aus 8 oder 16 Einzelzellen aufgebaut sind.

Wir haben damit bei dem gleichen Bakterium eine in der That recht erhebliche Breite des Formwechsels vor uns, an dessen einem Ende bewegliche Stäbchen, an dessen anderem Sarcinen stehen. Begreiflicher Weise musste ein so ungewöhnliches Vorkommniss zuerst den Verdacht wachrufen, dass die benutzten Culturen nicht rein, sondern aus verschiedenen Mikrobien gemischt wären, aber die immer von Neuem wieder mit allen Vorsichtsmaassregeln und den stärksten Verdünnungen vorgenommenen Uebertragungen führten doch stets zu dem gleichen Ergebniss, das zudem von den sämmtlichen in unserem Institut thätigen

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XX. S. 412.

[2] Stolz, *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXIV. S. 337.



Herren, wie Prof. Dr. Fraenkel, Privatdocent Dr. Sobernheim u. s. f. bei eigener Nachprüfung bestätigt werden konnte und deshalb wohl als zweifellos angesehen werden darf. Allerdings werden die geschilderten Verhältnisse nur dann mit Sicherheit und der erforderlichen Deutlichkeit wahrgenommen, wenn es sich um gut entwickelte, üppig gewachsene Culturen handelt, und schon geringfügige Abweichungen in der Zusammensetzung der Nährböden können hier einen sehr wesentlichen und entscheidenden Einfluss ausüben. Damit soll nicht gesagt sein, dass nicht auch im günstigsten Falle noch Schwankungen beobachtet werden, in den vom Agar stammenden Präparaten neben den Stäbchen Kugeln und umgekehrt in der Bouillon auch neben den Streptokokken oder Sarcinen längere Elemente auftauchen. Aber je besser die Culturen gediehen, um so mehr treten diese Ausnahmen doch in den Hintergrund, und diese Thatsache verdient namentlich deshalb hervorgehoben zu werden, weil sie gewiss den schlagendsten Beweis gegen die Auffassung liefert, dass die eine oder die andere der verschiedenen Formen als Erzeugniss der Involution, der Degeneration anzusehen sei und deshalb für den regelmässigen Formenkreis nicht in Betracht komme.

Bot unser Mikroorganismus, dem ich zu Ehren meines Lehrers den Namen „Bacterium Fraenkelii“ geben möchte, in morphologischer Beziehung also eine Reihe der bemerkenswerthesten Eigenthümlichkeiten dar, so lässt sich sein sonstiges Verhalten mit wenigen Worten erledigen. Das Wachsthum geht sehr viel rascher bei Brütwärme als bei Zimmertemperatur von Statten, es erfolgt daher am besten auf Agar, Glycerinagar, Serum, oder in Bouillon. Auf Kartoffeln haben wir eine Entwickelung nicht beobachten können. Auf Agar entsteht innerhalb 24 Stunden bei Blutwärme ein üppiger, lackartig glänzender, orangegelb gefärbter Rasen, der dem des Staphylococcus pyogenes aureus in jeder Hinsicht ähnelt. Die Colonieen auf der Oberfläche der Agarplatte erscheinen bei mikroskopischer Betrachtung als dicke, massige, scharf umrandete Gebilde von gelbbrauner Farbe. In Bouillon sammelt sich ein fadenziehender Bodensatz an, während die Flüssigkeit selbst klar bleibt. Gemäss der mangelhafteren Entwickelung bei gewöhnlicher Temperatur ist das Wachsthum auf Gelatine ein sehr geringfügiges; erst nach 3 oder 4 Tagen entstehen hier ganz kleine, runde Colonieen von gelbbrauner Farbe, welche theils bewegliche und theils unbewegliche kurze Stäbchen enthalten. Nach vielen Tagen ist eine langsam fortschreitende Verflüssigung der Gelatine wahrzunehmen. Bei der subcutanen oder intraperitonealen Verimpfung selbst grosser Mengen auf Mäuse und Meerschweinchen macht sich eine pathogene Wirkung nicht bemerkbar.



[Aus dem hygienischen Institut der Universität Halle.]

Weitere Untersuchungen über Milzbrandimmunität.

Von

Dr. **G. Sobernheim,**
Privatdocenten.

Frühere Untersuchungen[1] hatten zu dem Ergebnisse geführt, dass in dem Blute von Thieren, welche durch langdauernde Vorbehandlung mit vollvirulenten Culturen einen sehr hohen Grad activer Immunität gegenüber der Milzbrandinfection erreicht haben, Schutzstoffe specifischer Art zur Entwickelung gelangen, wie sie dem Blute normaler oder auch schwach immunisirter Thiere eigen sind. Namentlich in letzterer Hinsicht war es von besonderem Interesse, dass Rinder, welche eine Spontanerkrankung an Milzbrand überstanden hatten oder der Schutzimpfung nach dem Pasteur'schen Verfahren unterworfen worden waren, ein völlig unwirksames Blutserum lieferten, und dass auch bei Kaninchen, trotz recht energischer activer Immunisirung specifische Blutveränderungen nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden konnten. Wenigstens äusserte das Serum von Thieren, welche schliesslich die Impfung mit 1 Oese virulenter Milzbrandcultur ohne erhebliche Reaction zu überwinden vermochten, bei anderen Kaninchen, selbst in Dosen von 8 und 10 ^{ccm}, keine nennenswerthe Schutzkraft. Erst eine weitere, sehr beträchtliche Steigerung der activen Immunität, wie sie bei grösseren Thieren, nämlich Schafen, versucht wurde, führte zum Ziele. Freilich schien es, als ob auch hier neben dem Grade des erworbenen Impfschutzes noch gewisse andere, nicht näher bekannte Ursachen für die Entstehung der specifischen Antikörper von

---

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXV.



Bedeutung sein müssten, insofern, als bei den beiden, zu diesem Zwecke in Behandlung genommenen und etwa unter den gleichen Bedingungen und nach den gleichen Grundsätzen immunisirten Thieren der Erfolg ein durchaus verschiedener war. Während nämlich das Blutserum des einen Hammels jede Andeutung specifisch erhöhter Schutzkraft vermissen liess, übte das des anderen Thieres, wenigstens unter besonderen Verhältnissen, unzweifelhaft eine, wenn auch nicht sehr starke, immunisirende Wirkung aus; Kaninchen, welche mit derartigem Serum in Mengen von 4 bis 10 ccm vorbehandelt wurden, fielen einer gleichzeitigen oder nachfolgenden, für unbehandelte Thiere innerhalb 36 bis 48 Stunden sicher tödtlichen Milzbrandinfection erst nach längerer Zeit, bis zu 14 Tagen, zum Opfer. Dagegen erwies sich die Schutzkraft auch dieses Serums, trotz vielfacher Versuche, nicht als ausreichend, um eines der damit vorbehandelten Thiere am Leben zu erhalten. Bei Meerschweinchen und Mäusen, welche bereits der activen Immunisirung unüberwindliche Schwierigkeiten in den Weg legen und somit von vornherein als wenig geeignete Versuchsthiere angesehen werden durften, versagte das Serum vollkommen, da selbst gegenüber der Infection mit stark abgeschwächten Culturen der erstgenannten Thierart nur ein äusserst geringfügiger und bezüglich seines specifischen Charakters zum mindesten zweifelhafter, Mäusen dagegen überhaupt kein Impfschutz verliehen werden konnte.

Von anderer Seite war dagegen über weit günstigere Ergebnisse der Serumimmunisirung berichtet worden. Hatten unter den von mir in den Kreis dieser Untersuchungen gezogenen drei Thierarten, Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen, nur die letzteren auf die Injection des Milzbrandserums in specifischer Weise reagirt, und auch diese nur innerhalb enger Grenzen, so wollten namentlich Sclavo[1] und Marchoux[2] mit Hülfe eines in ähnlicher Weise von Schafen, Pferden, Eseln u. s. w. gewonnenen Serums eine weit wirksamere Immunisirung erreicht haben. Durch relativ geringe Serummengen (1 bis 2 ccm) sollten Kaninchen mit Sicherheit gegen eine sonst tödtliche Infection geschützt werden und auch bei Meerschweinchen gewisse Erfolge zu verzeichnen sein. Es musste nach diesen Mittheilungen wohl zunächst vermuthet werden, dass das mir zur Verfügung stehende Milzbrandserum einen zu geringen Immunisirungswerth besass und somit hinsichtlich seiner Leistungsfähigkeit hinter den Präparaten der genannten Autoren zurückblieb. Wenn ich jedoch einer derartigen, naheliegenden Auffassung nicht beitreten, also Unterschiede in

[1] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XVIII. — *Riv. d'Igiene e Sanità pubblica.* 1896. Nr. 18 u. 19.

[2] *Annales de l'Institut Pasteur.* 1895.



der Wirksamkeit der geprüften Sera als Erklärung für die bestehenden Differenzen nicht ohne Weiteres gelten lassen wollte, so wurde ich hierzu in erster Linie durch die Thatsache veranlasst, dass das durch Sclavo bereitete und mir freundlichst zur Verfügung gestellte Milzbrandserum bei der Prüfung gegenüber meiner vollvirulenten Milzbrandcultur keineswegs den gehegten Erwartungen entsprach. Es war zwar im Stande, den Tod der Kaninchen für eine Reihe von Tagen zu verzögern, jedoch in keinem einzigen Falle überhaupt zu verhindern.

Ferner aber schien gegen die Minderwerthigkeit des von mir benutzten Milzbrandserums der weitere Umstand zu sprechen, dass meine beiden Serum liefernden Schafe bereits einen hohen Grad activer Immunität erworben hatten, der dem der von Sclavo und Marchoux immunisirten Thiere kaum nachstand und in ihrem Serum, namentlich bei Verwendung 10- und 20fach höherer Dosen, sicherlich die gleiche Schutzwirkung hätte hervortreten lassen müssen. Endlich wiesen auch die Angaben Sclavo's und Marchoux's unter einander keineswegs völlige Uebereinstimmung auf, waren vielmehr gerade in einer ausserordentlich wichtigen Frage widersprechende. Während nämlich der Letztere eine Serumimmunisirung bei Kaninchen nur dann mit Erfolg durchgeführt hatte, wenn die spätere Infection mit sporenfreiem Materiale, nicht aber mit Milzbrandsporen vorgenommen wurde, fand Sclavo in dieser Hinsicht keine erheblichen Differenzen und die durch sein Milzbrandserum zu erzielende passive Immunität einer Sporeninfection gegenüber genau so zuverlässig, wie gegen die Stäbcheninfection. Aus allen diesen Gründen konnte es für mich keinem Zweifel unterliegen, dass die scheinbar günstigeren Ergebnisse der anderen Autoren nicht den Eigenschaften eines stärkeren Milzbrandserums, vielmehr der besonderen Art ihrer Versuchsanordnung, vor Allem wohl der Benutzung einer weniger virulenten Cultur für die Zwecke der Immunitätsprüfung zuzuschreiben waren.

Die theoretisch wie praktisch bedeutsame Frage, ob es überhaupt bei dem Milzbrande möglich sei, die in dem Blute hochimmuner Thiere auftretenden specifischen Schutzstoffe zu einer lebensrettenden passiven Immunisirung anderer Individuen heranzuziehen, durfte unter diesen Umständen noch als eine offene bezeichnet werden. Jedenfalls konnten die von Sclavo und Marchoux mitgetheilten Beobachtungen als einwandfreier Beweis nicht gelten. Auch die positiven Ergebnisse, welche Sawtchenko[1] neuerdings bei weissen Ratten erzielt haben will, kommen hier als entscheidend nicht in Betracht, da es sich um Versuche an einer zum mindesten nicht vollempfänglichen Thierart handelt. Ich hielt es

[1] *Annales de l'Institut Pasteur.* 1897. p. 865.



daher für eine lohnende Aufgabe, diesen Verhältnissen weiter nachzuforschen und, wenn auch die bisherigen Erfahrungen nicht gerade Aussicht auf Erfolg zu versprechen schienen, eine endgültige Entscheidung auf experimentellem Wege herbeizuführen. Der Gang der Untersuchungen war in der Hauptsache vorgezeichnet. Es galt durch fortgesetzte, excessive Steigerung der activen Immunität nach Möglichkeit auch die specifische Schutzkraft des Blutes zu erhöhen und diese letztere nun an Kaninchen, welche auf Grund der früheren Ermittelungen unter den vollempfänglichen Arten kleinerer Versuchsthiere allein in Betracht kommen konnten, sowie etwa auch an grösseren, unter natürlichen Verhältnissen spontan erkrankenden Thieren, wie Schafen, einer eingehenden Prüfung zu unterwerfen.

Ueber die hierbei gewonnenen Ergebnisse, welche ich zum Theil bereits an anderer Stelle[1] nach den wichtigsten Gesichtspunkten mitgetheilt habe, möchte ich zunächst in extenso berichten.

Immunisirungsversuche an Kaninchen.

Zur Gewinnung eines geeigneten Milzbrandserums dienten mir die beiden bereits erwähnten Schafe, welche ich von Anfang an für diesen Zweck in Behandlung genommen hatte. Das früher geprüfte Serum dieser Thiere war durch Blutentnahme am 10. Tage nach der Infection mit $^2/_3$ Agarcultur (Hammel Nr. I), bezw. einer ganzen Agarcultur (Hammel Nr. II) gewonnen worden, wobei, um dies nochmals ausdrücklich hervorzuheben, nur das des zweiten Thieres eine specifische Schutzwirkung zu erkennen gab. Die Immunisirung wurde nun in der folgenden Zeit nach den früher angegebenen Grundsätzen durch subcutane Verimpfung virulentester Culturen in steigenden Dosen fortgeführt. Die Injectionen konnten, bei sorgfältiger Controle des Körpergewichtes und Fieberverlaufes, durchschnittlich in 14tägigen Intervallen wiederholt werden, so dass die Thiere bald den Bakterienrasen mehrerer Agarculturen, später eine Massencultur (nach Kolle),[2] nach einigen weiteren Monaten, im Ganzen etwa $^3/_4$ Jahr seit dem ersten Beginn der Behandlung, 5 bis 6 Massenculturen auf ein Mal injicirt bekamen und diesen Eingriff ohne schwerere Krankheitserscheinungen, lediglich unter stärkerem, oft 6 bis 8 Tage währendem Temperaturanstieg und mässiger Gewichtsabnahme, zu ertragen vermochten. Die örtlichen Reactionen nach Einverleibung

[1] *Berliner klin. Wochenschrift.* 1897. Nr. 42.

[2] Vgl. Selberg, *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XVIII. Nr. 17/18. Eine Massencultur = 12 Agarculturen.



so gewaltiger Virusmengen pflegten recht erhebliche zu sein und sich in Form von ausgebreiteten, Anfangs weicheren, später derben, knotigen Infiltrationen darzustellen, ohne jedoch auf den Verlauf des Immunisirungsprocesses einen irgendwie ungünstigen Einfluss auszuüben. Noch nach Wochen, unter Umständen selbst nach Monaten, liessen feste Stränge und knotige Verdickungen die Stelle vorangegangener Injectionen deutlich erkennen.

Von Zeit zu Zeit wurde den Thieren aus der V. jugularis Blut entnommen, und zwar regelmässig 12 bis 14 Tage nach der letzten Impfung, und das hieraus gewonnene Serum nun an Kaninchen auf seinen specifischen Schutzwerth untersucht. Die Kaninchen erhielten zu diesem Zwecke die Seruminjection unter die Bauchhaut und dann gewöhnlich, soweit nicht in einzelnen Tabellen ausdrücklich ein anderer Modus angegeben ist, nach 24 Stunden die Milzbranddosis, letztere unter die Rückenhaut. Zur Probeinfection wurde meistens sowohl sporenhaltiges Material, wie es 2- bis 3tägige Agarculturen lieferten, als auch sporenfreies, frisches Milzbrandblut verwendet, um über möglicher Weise vorhandene Differenzen nach dieser Richtung sicheren Aufschluss zu erhalten.

Wenn ich nunmehr auf die Ergebnisse dieser Prüfungen im Einzelnen eingehen darf, so sei zunächst als bemerkenswerth die Thatsache hervorgehoben, dass auch das Blutserum des Hammels Nr. I, welches in den ersten Stadien der Immunisirung noch völlig unwirksam geblieben war, entsprechend der gesteigerten activen Immunität allmählich entschieden specifisch schützende Eigenschaften erlangte. Schon als dieses Thier so weit vorbehandelt worden, dass es die Impfung mit einer Massencultur überstehen konnte, verfügte es in seinem Blute über einen Gehalt an Antikörpern, wie er vorher auch nicht andeutungsweise zu Tage getreten war. Ein Blick auf die später noch näher zu besprechende Tabelle IV giebt ohne Weiteres eine zwar nicht sehr bedeutende, immerhin aber wohl bemerkbare Schutzwirkung zu erkennen. Wenn Kaninchen nach der Injection von 6 ^{ccm} dieses Serums eine für mit normalem Serum vorbehandelte Controlthiere nach 2 bis $2^1/_2$ Tagen tödtliche Milzbrandinfection um 4 bis 7 Tage überlebten, so ist das ein Erfolg, der durch irgend eine normale Serumart gegenüber der relativ hohen Milzbranddosis von $^1/_{100}$ Oese niemals erreicht werden konnte und daher ohne Frage auf Rechnung der in dem Serum neu aufgetretenen specifischen Schutzstoffe gesetzt werden musste. Die Richtigkeit dieser Anschauung fand ich im ferneren Verlaufe der Untersuchungen dadurch bestätigt, dass späterhin in dem Blute des inzwischen noch stärker immunisirten Hammels auch jene schützenden Kräfte entschieden eine weitere Steigerung ihrer Wirksamkeit erfahren hatten. Freilich war dieselbe, wie bereits an dieser Stelle



erwähnt sei, niemals ausreichend, um den Thieren etwa einen absolut sicheren oder dauernden Impfschutz zu verleihen.

Die mit dem Blute des zweiten Thieres (Hammel Nr. II) gemachten Erfahrungen waren im Grossen und Ganzen ähnlicher Art und erbrachten gleichfalls den Beweis, dass die Schutzkraft des Milzbrandserums mit dem Grade activer Immunität, wie er dem blutliefernden Thiere verliehen worden ist, im engsten Zusammenhange steht und daher auf systematischem Wege recht beträchtlich verstärkt werden kann. So vermochte das Serum dieses Hammels, welches bei der ersten Prüfung zwar zu einer Verzögerung des Todes, niemals aber zur sicheren Rettung ausgereicht hatte, zu einer späteren Zeit, nachdem das Thier wiederholten Impfungen mit Massenculturen unterworfen worden war, in nicht allzu erheblichen Mengen einzelne Kaninchen gegen eine sonst unfehlbar tödtliche Milzbrandinfection zu schützen. Freilich schien damit auch die Grenze seiner Leistungsfähigkeit erreicht zu sein. Die Hoffnung, noch günstigere Resultate zu erzielen und etwa alle mit einer bestimmten Serummenge vorbehandelten Kaninchen am Leben zu erhalten, erwies sich als trügerisch, indem selbst nach der Verimpfung von 6 Massenculturen das Thier ein diesen Ansprüchen auch nur einigermassen genügendes Serum nicht zu liefern im Stande war.

Tabelle I giebt Auskunft über derartige Versuche mit dem Blutserum von Hammel Nr. II.

Tabelle I.

Immunisirungsversuch mit dem Blutserum von Hammel II.
(Blutentnahme: 12 Tage nach der Impfung mit 6 Massenculturen.)

Nr.	Gewicht in grm	Vorbehandlung		Infection	Bemerkungen
1	1200	3 ccm	Hammelserum II	24 Stunden später $^{1}/_{50}$ Oese virulent. Milzbrandcultur	Uebersteht die Infection. († nach 4 Wochen, Coccidiose. Keine Milzvergrösserung, auch culturell keine Milzbrandbacillen nachweisbar.)
2	1160	6 „			† 56—64 Std. Milz mässig vergrössert. Bacillen nicht sehr reichlich vorhanden.
3	1100	9 „			Bleibt leben.
4	1300	12 „			† 5—6 Tagen. Kein Oedem, nur lebhafte Röthung an der Injectionsstelle, Milz stark vergrössert, Bac. in mässiger Zahl.
5	1230	15 „			† 8 Tage. Kein Oedem, Milz stark vergrössert, massenhaft Milzbrandbacillen.
6	1450	10 ccm norm. Hammelserum			† 36—44 Std. Typischer Befund.



Tabelle I. (Fortsetzung.)

Nr.	Gewicht in grm	Vorbehandlung	Infection	Bemerkungen
7	1100	3 ccm Hammelserum II	24 Stunden später 1 ccm einer Aufschwemmung von 5 Tropfen frischen Milzbrandblutes (Maus) in 20 ccm Bouillon	† 51—53 Stunden. Gewöhnlicher Befund, Bacillen nicht sehr zahlreich.
8	1340	6 „ Hammelserum II		Bleibt leben.
9	1170	9 „ Hammelserum II		desgl.
10	1500	12 „ Hammelserum II		† 6—7 Tagen. Geringes Oedem, sonst gewöhnl. Befund. Massenhaft Bacillen.
11	1200	15 „ Hammelserum II		Bleibt leben.
12	1590	10 „ norm. Hammelserum		† 36—44 Std. Typischer Befund.

Bei oberflächlicher Betrachtung schon muss es im höchsten Maasse auffallend erscheinen, dass die Serumwirkung jede Regelmässigkeit, Sicherheit und Gesetzmässigkeit vermissen lässt. Während in den Fällen (Nr. 1 und 7) 3 ccm gegen eine Sporeninfection Schutz verleihen, nicht aber gegenüber der Impfung mit sporenfreiem Materiale, sehen wir bei der höheren Dosis von 6 ccm genau das umgekehrte Verhältniss (Nr. 2 und 8). Hier stirbt das mit Sporen inficirte Thier, und zwar nur um ein geringes später als das Controlthier, dagegen überlebt das mit Milzbrandblut geimpfte. Ueberhaupt ist es eine für die Infection mit sporenhaltigem, wie sporenfreiem Materiale gleichmässig hervortretende, bemerkenswerthe Erscheinung, dass mit der Höhe der Serumdosis keineswegs nun auch etwa die Sicherheit des Erfolges wächst, vielmehr jeder gesetzmässige Zusammenhang zwischen Vorbehandlung und Verlauf der Infection zu fehlen scheint. Es wäre z. B. völlig unmöglich, auf Grund der hier mitgetheilten Versuchsreihe den Wirkungswerth des Serums auch nur annähernd zu bestimmen und etwa eine exacte Dosirung vorzunehmen. Wenn man vielleicht hätte einwenden wollen, dass bei Benutzung noch höherer Dosen gleichmässige und zuverlässige Resultate erzielt worden wären, so schien diese Annahme freilich durch die bisher beobachteten Leistungen des Milzbrandserums wenig begründet. Die grössten der verwendeten Serummengen (15 ccm) waren absolut, sowie im Verhältniss zum Körpergewicht der Thiere, nicht unbeträchtliche gewesen, hatten aber trotzdem gegenüber weit kleineren Mengen von 3, 6, 9 ccm keineswegs einen irgendwie bemerkenswerthen Vortheil gewährt. Schon hiernach durfte man, wie ich glaubte, das Wesen der bei manchen Thieren zu verzeichnenden Misserfolge nicht mit der Dosirungsfrage in Zusammenhang bringen und von grösseren Quantitäten etwa sichere Wirkungen



erhoffen. Durch die in Tabelle II aufgeführten Versuche wird ganz unmittelbar der experimentelle Beweis erbracht, wie berechtigt dieser Zweifel gewesen. Eine Mischung der beiden schutzkräftigsten Sera, über die ich verfügte, war selbst in der Dosis von 20 ccm nur ausreichend, 5 von 7 Thieren zu retten, während 2 nach 9, bezw. 12 bis 13 Tagen der Infection unter den gewöhnlichen Erscheinungen erlagen, ein Erfolg, der den bescheidensten Anforderungen an die gesetzmässige Sicherheit einer passiven Immunisirung nur in höchst unvollkommenem Maasse entsprach.

Tabelle II.
Immunisirungsversuch mit hohen Dosen der beiden wirksamsten Immunsera (Hammelserum I und II).
Kaninchen.

Nr.	Gewicht in grm	Vorbehandlung	Infection	Bemerkungen
1	1030	20 ccm Hammelserum I u. II.	Nach 24 Std. 1 ccm einer Aufschwemmung von 3 Tropfen frischen Milzbrandblutes (Maus) in 20 ccm steril. Bouillon	Bleibt leben.
2	1220			desgl.
3	1380			† 9 Tagen. Gewöhnl. Befund, geringes Oedem.
4	1400			Bleibt leben.
5	1310			† 12—13 Tagen. Milz mässig geschwollen, Oedem gering, massenhaft Bacillen.
6	1330			Bleibt leben.
7	980			desgl.
8	1290	20 ccm norm. Hammelserum		† 48—56 Stunden. Gewöhnl. Befund. Bacillen in mässiger Zahl.

Es kommt hinzu, dass sämmtliche Kaninchen, welche in diesen, sowie in den später noch zu besprechenden Versuchen nach vorangegangener Serumbehandlung die Infection mit virulentem Milzbrand einmal überlebt hatten, bei einer, nach 6 bis 8 Wochen wiederholten Prüfung, der gleichen Dosis, meist ohne erhebliche Verzögerung, zum Opfer fielen.

Nach diesen Beobachtungen durfte es wohl schon als ausgeschlossen gelten, auf dem Wege passiver Immunisirung bei Kaninchen noch bessere Leistungen zu erzielen oder vielmehr ein so schutzkräftiges Milzbrandserum herzustellen, das bei vielen Thieren mit Sicherheit der tödtlichen Wirkung einer vollvirulenten Milzbrandcultur zu begegnen im Stande wäre. Da die geradezu staunenswerthe Höhe activer Immunität, wie sie Schafe nach dem Ueberstehen einer Impfung mit der enormen Virusmenge von 6 Massenculturen erlangt hatten, doch nur specifische Blutveränderungen von scheinbar eng begrenzter Wirksamkeit hervorgebracht hatte, waren



weitere Fortschritte nicht mehr zu erhoffen. So habe ich denn in der That weder mit einem anderen Milzbrandserum, noch auch mit später entnommenen Serumproben des gleichen Thieres jemals die Resultate der eben mitgetheilten Versuchsreihe überbieten können. Von vielen Serumprüfungen seien nur noch die beiden folgenden (Tabelle III) wegen ihres relativ günstigen Ergebnisses angeführt. Es handelt sich dabei um das Serum zweier Hammel, welche ursprünglich für gewisse, später noch zu erwähnende Versuche gedient hatten, dann einer weiteren activen Immunisirung unterworfen und zur Zeit der Blutentnahme bereits mit mehreren, 2 bezw. 3 Massenculturen behandelt worden waren. Auch hier wieder ein gewisser Erfolg. Einige Kaninchen überstanden die Infection dauernd, andere gingen erst nach längerer Zeit zu Grunde, und zwar viele Tage später als die Controlthiere, aber es fehlte dem Verlaufe das Gesetzmässige. Geringe Serummengen retteten das eine Thier, während ein zweites trotz Vorbehandlung mit einer weit höheren Serumdosis der Infection erlag.

Tabelle III.

Immunisirungsversuch mit dem Blutserum von Hammel IV u. VI (entnommen 14 Tage nach der Impfung mit 2 bezw. 3 Massenculturen).

Kaninchen.

Nr.	Gewicht in grm	Vorbehandlung		Infection	Bemerkungen
1	1024	3 ccm			Bleibt leben.
2	1070	6 „	Hammelserum Nr. IV	Nach 24 Stunden 1/50 Oese virulent. Milzbrandcultur	† 8—9 Tag. Geringes Oedem, Milz mässig vergrössert, Bacillen ziemlich reichlich.
3	920	9 „	Hammelserum Nr. IV	Nach 24 Stunden 1/50 Oese virulent. Milzbrandcultur	† 6—7 Tagen. Gewöhnlicher Befund, Milzbrandbacillen nicht sehr zahlreich.
4	980	12 „	Hammelserum Nr. IV	Nach 24 Stunden 1/50 Oese virulent. Milzbrandcultur	† 9—10 Tagen. Geringes Oedem, sonst gewöhnlicher Befund.
5	1070	3 „	Hammelserum Nr. V	Nach 24 Stunden 1/50 Oese virulent. Milzbrandcultur	† 7—8 Tagen. Kein Oedem, Milz stark geschwollen, Milzbrbac in mässiger Zahl.
6	1130	6 „	Hammelserum Nr. V	Nach 24 Stunden 1/50 Oese virulent. Milzbrandcultur	Bleibt leben.
7	980	9 „	Hammelserum Nr. V	Nach 24 Stunden 1/50 Oese virulent. Milzbrandcultur	desgl.
8	1160	12 „	Hammelserum Nr. V	Nach 24 Stunden 1/50 Oese virulent. Milzbrandcultur	† 8—9 Tagen. Gewöhnlicher Befund, Bacillen nicht sehr reichlich.
9	1220	6 „	Normales Hammelserum	Nach 24 Stunden 1/50 Oese virulent. Milzbrandcultur	† 56—64 Std. Bacillen in mässiger Zahl, sonst gewöhlicher Befund.
10	1280	12 „	Normales Hammelserum		† 56—64 Std. Typischer Befund.

Es spielten somit offenbar, wollte man diese schwankenden Resultate nicht einfach auf Zufälligkeiten zurückführen, neben der Serummenge



individuelle Differenzen der Versuchsthiere eine geradezu entscheidende Rolle. Man durfte sich daher wohl mit Recht nochmals die Frage vorlegen, ob wir es bei den bisher erreichten Schutzwirkungen nicht doch vielleicht einfach nur mit den Erscheinungen gesteigerter Resistenz zu thun hatten, also mit einem jedes specifischen Charakters entbehrenden Zustande erhöhter Widerstandsfähigkeit. Die Deutung des durch die Seruminjectionen erzielten Impfschutzes im Sinne echter passiver Immunisirung gründete sich, wie bereits erwähnt, auf die an einer grösseren Reihe von Thieren festgestellte Thatsache, dass erst im Verlaufe des Immunisirungsprocesses die schützenden Eigenschaften des Blutes zur Entwickelung gelangt waren, während die verschiedensten Serumarten normaler, unbehandelter Individuen stets als völlig unfähig befunden wurden, den tödtlichen Ausgang einer Milzbrandinfection auch nur in nennenswerther Weise zu verzögern. Gab es für diese Beobachtungen kaum eine andere Erklärung als die Annahme specifischer Vorgänge, so war doch ein völlig einwandfreier Beweis hierfür nocht nicht erbracht worden. Man konnte die Vermuthung äussern, ob nicht vielleicht durch die häufigen, starken Reactionen, wie sie der thierische Organismus unter dem Einflusse der wiederholten Verimpfung mehrerer Massenculturen zu überstehen hatte, die normaler Weise im Körper schon vorhandenen Schutzkräfte zu einer ungewöhnlich gesteigerten Wirksamkeit befähigt und veranlasst wurden, wie dies auch bei einer Reihe anderer Infectionen an hochgradig immunisirten Thieren beobachtet worden ist. Es sei nur daran erinnert, dass z. B. das Blut von Thieren, welche durch längere Vorbehandlung eine starke Immunität gegen Cholera oder Typhus erworben haben, fast regelmässig neben einem erheblichen Gehalte an specifischen Antikörpern auch eine geringe, immerhin aber deutliche Zunahme seiner allgemeinen, nichtspecifischen schutzverleihenden Kräfte gegenüber den verschiedensten Bakterienarten zu erkennen giebt. Freilich hielt ich für den besonderen Fall der Milzbrandimmunität eine derartige Annahme aus manchen Gründen nicht für sehr glaubhaft, immerhin aber erschien es nothwendig, völlige Klarheit zu schaffen und auf experimentellem Wege zu entscheiden, inwieweit das „Milzbrandserum“ im Stande sei, auch gegen eine Infection mit anderen Bakterien Schutz zu verleihen, und umgekehrt eine Milzbrandinfection durch das Serum von Thieren, welche mit Massenculturen beliebiger sonstiger Bakterienarten behandelt worden sind, in erfolgreicher Weise beeinflusst werden könne.

Einige wenige Versuche genügten, um die völlige Unmöglichkeit nicht-specifischer Immunisirungen darzuthun. Für die Prüfung andersartiger Immunsera — um auf diesen letzteren Punkt zunächst einzugehen — bediente ich mich des bekannten Pfeiffer'schen Cholera- und Typhus-



serums, wovon mir die erforderlichen Mengen durch Hrn. Dr. Kolle in bereitwilligster Weise zur Verfügung gestellt und übermittelt wurden. Beide Serumarten waren von Ziegen gewonnen worden, welche wiederholt Massenculturen der genannten Bakterien erhalten hatten, und besassen höchsten specifischen Schutzwerth. 6 Kaninchen wurden zu dem Versuche herangezogen und mit je 5, 10 und 20 ^{ccm} des Cholera-, bezw. Typhusserums vorbehandelt, um 24 Stunden später eine Dosis von $^1/_{100}$ Oese sporentragender Milzbrandcultur zu erhalten. Sämmtliche Thiere gingen nach längstens 3 Tagen, wie die Controlthiere, unter typischen Erscheinungen zu Grunde.

Ebenso wenig bewährte sich das Milzbrandserum gegenüber der Cholera- oder Typhusinfection. Der Versuch, welcher in der Form der Pfeiffer'schen Reaction an Meerschweinchen angestellt wurde, ergab keinerlei Anhaltspunkte für eine etwa über die Norm gesteigerte Leistungsfähigkeit, indem die Menge von 0·1 ^{ccm} nicht ausreichte, um 1 Oese virulenter Cholera- oder Typhusbakterien innerhalb von 25 Minuten völlig zur Auflösung zu bringen.

Mit diesen Befunden waren die in dem Blute der milzbrandimmunen Schafe auftretenden Schutzstoffe endgültig ihres specifischen Charakters überführt, und es sollte zunächst die Aufgabe weiterer Untersuchungen sein, wenn möglich, die unvollkommenen Leistungen des Milzbrandserums bei Kaninchen in ihren wahren Ursachen aufzudecken. Die Ueberlegung, welcher Art wohl die in allen Fällen deutlich wahrnehmbaren und ausschlaggebenden individuellen Einflüsse der Versuchsthiere sein konnten, musste begreiflicher Weise den Gedanken nahe legen, dass die dem Organismus einverleibten Antikörper nach relativ kurzer Zeit wieder ausgeschieden oder sonst irgendwie unwirksam gemacht wurden, und zwar in der Regel schneller, als eine völlige Vernichtung aller Milzbrandkeime zu erfolgen pflegt. Es vermögen mit anderen Worten — so durfte man wenigstens nach den bisher mitgetheilten Ergebnissen, sowie auf Grund sonstiger Erfahrungen annehmen — einzelne Milzbrandsporen und auch Milzbrandstäbchen eine Reihe von Tagen in dem Körper der inficirten Thiere in lebensfähigem und virulentem Zustande allen bakterienfeindlichen Einwirkungen zu widerstehen, während andererseits die mit dem Serum eingeführten Schutzstoffe wahrscheinlich einer mehr oder minder raschen Beseitigung anheimfallen. Eine dauernde Rettung würde also unter diesen Bedingungen nur dann zu Stande kommen, wenn bei der Ausscheidung der letzten Mengen wirksamer Antikörper auch sämmtliche Milzbrandkeime vernichtet wären, und nicht etwa einzelne persistirende Elemente noch nachträglich eine tödtliche Infection herbeiführen könnten.



Tabelle IV.

Prüfung der Dauer der passiven Milzbrandimmunität mittels Hammelserum I. (Entnommen 14 Tage nach der Impfung mit $4^1/_2$ Massenculturen.)

Nr.	Gewicht in grm	Vorbehandlung	Infection		Bemerkungen
1	1490	6 ccm Hammelserum I	9 Tage später	$^1/_{100}$ Oese virulent. Milzbrandcultur.	† 28—36 Stunden. Typischer Befund.
2	1260		8 „ „		† 52—60 Std. Geringes Oedem, starke Milzschwellung, Bacillen zieml. zahlr.
3	1740		7 „ „		† 76—84 Stunden. Typischer Befund.
4	1950		6 „ „		† 28—36 Stunden. Gewöhnlicher Befund. Milz mässig geschwollen.
5	1320		5 „ „		† 76—84 Stunden. Geringes Oedem, Milz mässig geschwollen. Bacillen ziemlich reichlich.
6	1960		4 „ „		† 4—5 Tagen. Gewöhnl. Befund, geringes Oedem.
7	1630		3 „ „		† 7 Tagen. Typischer Befund.
8	1350		2 „ „		† 4—5 Tagen. Geringes Oedem, Milz mässig geschwollen, Bacillen ziemlich zahlreich, meist längere Fäden.
9	2230		24 Std. „		† 5 Tagen. Gewöhnl. Befund, Bacillen nicht sehr reichlich.
10	1510		12 „ „		† 5—6 Tagen. Geringes Oedem, Milzschwellung, zahlreiche Bacillen.
11	1290	6 ccm norm. Hammelserum	24 „ „		† 52—60 Stunden. Typischer Befund.

Um daher eine Vorstellung von diesen Verhältnissen zu gewinnen und wenigstens mit annähernder Genauigkeit den Zeitpunkt zu bestimmen, bis zu welchem die durch passive Immunisirung einverleibten Milzbrandschutzstoffe von dem Kaninchenkörper zurückgehalten werden, wurde in der Weise verfahren, dass eine Anzahl von Thieren mit der gleichen Menge (6 ccm) eines vorher als wirksam befundenen Serums geimpft, dann aber nach verschiedenen Zeiten, nach 1, 2, 3 Tagen u. s. w., mit Milzbrand inficirt wurden. Wie aus Tabelle IV hervorgeht, liess sich bis zum 4., oder, wenn man will, vielleicht auch bis zum 5. Tage noch eine gewisse Schutzwirkung der Seruminjection nachweisen, während darüber hinaus kein Erfolg zu verzeichnen war. Alle Thiere, welche innerhalb des genannten Zeitraumes der Probeinfection mit $^1/_{100}$ Oese virulenter Cultur unterworfen worden waren, überlebten den Tod der Controlthiere, sowie den der erst später inficirten Kaninchen um ein relativ Beträchtliches. Ob man dem Serum auf Grund des bei Kaninchen Nr. 3 beobachteten, etwas verzögerten Verlaufes der Krankheit noch bis zum



7. Tage Schutzkraft zusprechen will, darf im Hinblick auf das völlige Versagen bei Thier Nr. 4 zum mindesten als zweifelhaft erscheinen und wohl überhaupt als eine Frage von untergeordneter Bedeutung angesehen werden. Nach 8 und 9 Tagen war jedenfalls auch die letzte Spur erhöhten Impfschutzes verschwunden und damit für eine immerhin rasche, bei verschiedenen Individuen natürlich mehr oder minder erheblichen, zeitlichen Schwankungen unterliegende Antitoxinausscheidung der Beweis erbracht.

Die kurze Dauer, durch welche also in der That, entsprechend den für fast alle sonstigen Infectionen gültigen Erfahrungen, der Zustand passiver Immunität auch bei dem Milzbrand charakterisirt ist, musste in diesem Falle aber von ganz besonders bedenklichen Folgen begleitet sein, weil eben erfahrungsgemäss Milzbrandbakterien, in Stäbchen- wie in Sporenform, längere Zeit als andere Mikroorganismen sich innerhalb des Thierkörpers zu halten vermögen, und konnte sehr wohl die Misserfolge bei einer grösseren Anzahl von Kaninchen erklären. Durch weitere Versuche galt es daher festzustellen, ob man vielleicht im Stande sei, auf künstlichem Wege die Serumimmunisirung ihrer rein transitorischen Wirkung zu berauben und die sonst unvermeidlichen Verluste an specifischen Schutzstoffen durch häufig wiederholte Antitoxinzufuhr zu ersetzen und auszugleichen, so lange, bis es dem thierischen Organismus gelungen, aller eingedrungenen Milzbrandkeime Herr zu werden. Zu diesem Zwecke wurden eine Reihe von Thieren in der Weise behandelt, dass sie zunächst eine bestimmte Serummenge, und zwar 3 ccm des Hammelserums Nr. II, dann, nach 24 Stunden, die Milzbranddosis erhielten und nun in der folgenden Zeit weiteren Seruminjectionen in 24stündigen Intervallen unterworfen wurden.

Der Erfolg entsprach, wie Tabelle V lehrt, nicht den Erwartungen und unterschied sich kaum von den durch einmalige Schutzimpfung erzielten Ergebnissen. Die Sicherheit liess durchaus zu wünschen übrig, und es genügt wohl schon der Hinweis auf die beiden, in völlig gleicher Weise behandelten Thiere Nr. 1 und 2, um die Regellosigkeit des Erfolges in überzeugender Weise darzuthun. Noch deutlicher tritt dies in denjenigen Fällen (Nr. 5, 6, 7) zu Tage, in denen eine fortgesetzte Behandlung mit geringeren Dosen, im Ganzen 18, bezw. 23 ccm, die betreffenden Kaninchen vor dem Tode bewahrte, während die höhere Gesammtmenge von 28 ccm Serum bei einem anderen Thiere lediglich eine Verzögerung des Todes bis zum 12. Tage zur Folge hatte. Dass ferner eine Infection mit sporenfreiem Materiale der Serumwirkung keine günstigeren Bedingungen stellte, als eine Sporeninfection, ergiebt sich ohne Weiteres aus den unter Nr. 12 bis 16 mitgetheilten Beobachtungen.



Tabelle V.

Immunisirungsversuch bei Kaninchen vermittelst wiederholter Seruminjectionen (Hammelserum II).

Nr.	Gewicht in grm	Vorbehandlung	Infection	Nachträgliche Serum-injection in ccm am 1. Tage	2.	3.	4.	5.	Gesammtmenge des injicirten Serums in ccm	Bemerkungen
1	1890	3 ccm Hammelserum II	24 Stunden später $^1/_{50}$ Oese virul. Milzbrandcultur	1	1	1	1	1	8	Bleibt leben.
2	1370	3 „ Hammelserum II	24 Stunden später $^1/_{50}$ Oese virul. Milzbrandcultur	1	1	—	—	—	5	† 56—64 Stunden. Typischer Befund.
3	1550	3 „ Hammelserum II	24 Stunden später $^1/_{50}$ Oese virul. Milzbrandcultur	2	2	2	—	—	9	† 104 Std. Geringes Oedem, Milzbrbac. in mässiger Zahl.
4	1500	3 „ Hammelserum II	24 Stunden später $^1/_{50}$ Oese virul. Milzbrandcultur	2	2	—	—	—	7	† 56—64 Stunden. Typischer Befund.
5	1550	3 „ Hammelserum II	24 Stunden später $^1/_{50}$ Oese virul. Milzbrandcultur	3	3	3	3	3	18	Bleibt leben.
6	1110	3 „ Hammelserum II	24 Stunden später $^1/_{50}$ Oese virul. Milzbrandcultur	4	4	4	4	4	23	desgl.
7	1800	3 „ Hammelserum II	24 Stunden später $^1/_{50}$ Oese virul. Milzbrandcultur	5	5	5	5	5	28	† 12 Tagen. Kein Oedem, Milz mässig vergr., zahlr. Bac.
8	1300	—	24 Stunden später $^1/_{50}$ Oese virul. Milzbrandcultur	5	5	—	—	—	10	† 50—54 Std. Gewöhnl. Befund, Milzbrandbac. nicht sehr reichlich.
9	1420	—	24 Stunden später $^1/_{50}$ Oese virul. Milzbrandcultur	10	10	—	—	—	20	† 60—68 Std. Gewöhnl. Befund, ganz spärl. Bacillen.
10	1250	5 ccm Normales H.-Serum	24 Stunden später $^1/_{50}$ Oese virul. Milzbrandcultur	—	—	—	—	—	—	† 34—42 Std. Geringes Oedem, sonst gewöhnl. Befund.
11	1980	10 „ Normales H.-Serum	24 Stunden später $^1/_{50}$ Oese virul. Milzbrandcultur	—	—	—	—	—	—	† 56—64 Stunden. Typischer Befund.
12	1450	3 ccm Hammelserum II	24 Std. später 1 ccm einer Aufschw. von 5 Tropfen frischen Milzbr.-Blutes (Maus) in 20 ccm Bouillon	1	1	1	—	—	6	† 84—92 Std. Gewöhnlicher Befund, Bacillen ziemlich spärlich.
13	1040	3 „ Hammelserum II	24 Std. später 1 ccm einer Aufschw. von 5 Tropfen frischen Milzbr.-Blutes (Maus) in 20 ccm Bouillon	2	2	2	—	—	9	† 4—5 Tagen. Gewöhnl. Befund, geringes Oedem.
14	1100	3 „ Hammelserum II	24 Std. später 1 ccm einer Aufschw. von 5 Tropfen frischen Milzbr.-Blutes (Maus) in 20 ccm Bouillon	3	3	3	3	3	18	Bleibt leben.
15	1240	3 „ Hammelserum II	24 Std. später 1 ccm einer Aufschw. von 5 Tropfen frischen Milzbr.-Blutes (Maus) in 20 ccm Bouillon	4	4	4	4	4	23	† 11—12 Tagen. Typischer Befund.
16	1590	20 „ Normales Hammelserum	24 Std. später 1 ccm einer Aufschw. von 5 Tropfen frischen Milzbr.-Blutes (Maus) in 20 ccm Bouillon	—	—	—	—	—	—	† 36—44 Stunden. Typischer Befund.



Bei zwei, gleichfalls in der Tabelle mit aufgeführten Thieren (Nr. 8 und 9) gestaltete sich das Verfahren in etwas anderer Weise, indem die erste Seruminjection nicht vor, sondern erst nach stattgehabter Infection vorgenommen wurde. Wie man sieht, hatte dieser Versuch einer nachträglichen, heilenden Immunisirung völlig negatives Ergebniss.

Alle diese Erfahrungen drängten nothwendiger Weise zu der Ueberzeugung, dass nicht die Mengen des verimpften Milzbrandserums, auch nicht einfache Unterschiede in der Art und Schnelligkeit der Antitoxinzufuhr oder Antitoxinausscheidung auf den Verlauf der Milzbrandinfection bei Kaninchen von bestimmendem Einfluss sein konnten, sondern vielmehr andere Ursachen unbekannter Natur, welche, starken individuellen Schwankungen unterliegend, zu so überaus unsicheren Resultaten zu führen pflegen und daran ein exactes passives Immunisirungsverfahren scheitern lassen. Es stellt das Kaninchen offenbar eine Thierart dar, welche, bei voller Empfänglichkeit für die Infection mit virulenten Milzbrandbakterien, der Immunisirung, der activen sowohl wie der passiven, erhebliche Hindernisse in den Weg legt. Während jedoch bei vorsichtiger Behandlung eine active Immunisirung dieser Thiere ohne Zweifel erreicht werden kann, wie ich bei früherer Gelegenheit[1] nachgewiesen und, im Gegensatz zu den neuerdings von Melnikow-Raswedenkow[2] berichteten negativen Ergebnissen, auch durch weitere Versuche durchaus bestätigt fand, leistet die passive Immunisirung, welche ihrer Natur nach eigentlich sichere und eindeutige Resultate geben sollte, so Unvollkommenes, dass man wohl den Gedanken aufgeben musste, auf diesem Wege zu einer befriedigenden Lösung zu gelangen.

Ein letzter Versuch nur sollte noch entscheiden, inwieweit etwa Grösse und Alter der Thiere den Immunisirungsprocess zu beeinflussen im Stande seien. Da ich fast ausnahmslos Kaninchen im Durchschnittsgewichte von 900 bis 1500 ^{grm} zur Serumbehandlung herangezogen hatte, möglicher Weise aber grössere und kräftigere Thiere, wie dies auch thatsächlich von mancher Seite[3] behauptet worden, für eine Milzbrandinfection weniger empfänglich und somit der Immunisirung leichter zugänglich sein konnten, entschloss ich mich, auch diesem Gesichtspunkte in geeigneter Weise Rechnung zu tragen. Ich wählte daher eine Anzahl besonders kräftiger Kaninchen von ca. 2000 ^{grm} Körpergewicht und darüber aus, und beobachtete nun die Schutzwirkung, welche in diesem Falle durch eine Injection hochwerthigen Milzbrandserums hervorgerufen wurde (Tabelle VI).

---

[1] *Diese Zeitschrift.* A. a. O.
[2] *Ebenda.* Bd. XXV.
[3] Vgl. z. B. Melnikow-Raswedenkow, a. a. O.



Tabelle VI.

Immunisirungsversuch mit dem Blutserum von Hammel I u. II bei grösseren Kaninchen.

Nr.	Gewicht in grm	Vorbehandlung		Infection	Bemerkungen
1	1960	1 ccm	Hammelserum I und II	Nach 24 Stunden 1/100 Oese virul. Milzbrandcultur, 2tägig, mit zahlreichen freien Sporen (filtrirt)	† 4—5 Tagen. Völlig typischer Befund.
2	2530	3 „			† 82—90 Stunden. Geringes Oedem a. d. Injectionsstelle, starke Milzschwellung, zahlreiche Milzbrandbacillen im Blute.
3	2050	6 „			Bleibt leben.
4	1810	9 „			† 7—8 Tagen. Typischer Befund.
5	2190	12 „			† 7—8 Tagen. Oedem gering. Milz stark geschwollen, massenhaft Milzbrandbac.
6	1720	12 „	Normales Hammelserum		† 48—56 Stunden. Typischer Befund.
7	2520	12 „			† 32 Std. Starkes Oedem, starke Milzschwellung, Milzbrandbac. in mässiger Zahl.
8	2120	1 „	Hammelserum I und II	Nach 24 Std. 1 ccm einer Aufschwemmung von 3 Tropfen frischen Milzbrandblutes (Maus) in 10 ccm Bouill.	† 72—80 Std. Ganz geringes Oedem, Milz mässig geschwollen, zahlr. Milzbrandbacillen.
9	1920	3 „			Bleibt leben.
10	1990	6 „			desgl.
11	2710	9 „			† 6 Tagen. Typischer Befund.
12	2170	12 „			† 7 Tagen. Starke entzündliche Reaction a. d. Injectionsstelle, kein Oedem, Milz stark geschwollen, Milzbrandbacillen in mässiger Zahl.
13	1780	12 „	Normales Hammelserum		† 24—32 Std. Gewöhnl. Befund, Milzbrandbacillen nicht sehr zahlreich.
14	2720	12 „			† 56 Std. Typischer Befund.

Es ist auf den ersten Blick einleuchtend, dass diese Thiere ebenso wie jüngere und leichtere durch die Seruminfection nicht zur sicheren Vernichtung sporenhaltiger oder sporenfreier Bakterien befähigt wurden und nach keiner Richtung hin die Annahme einer grösseren Widerstandsfähigkeit bestätigten.

Immunisirungsversuche an Schafen.

Von dem aussichtslosen Bemühen, die specifischen Schutzstoffe des Milzbrandserums zur Immunisirung von Kaninchen zu verwenden, glaubte ich unter diesen Verhältnissen Abstand nehmen und statt dessen eine andere Thierart in den Kreis meiner Untersuchungen ziehen zu sollen, welche aus verschiedenen Gründen der passiven Immunisirung geeignetere Bedingungen und günstigere Erfolge zu versprechen schien. Es waren dies Schafe. Ganz abgesehen davon, dass, wenn es gelang, hier erfolgreich vorzugehen, damit die Frage der Verwendung des Milzbrandserums auch eine erhöhte praktische Bedeutung gewinnen musste, sprach für die Wahl dieser Thiere die Thatsache, dass einmal bei ihnen auch auf dem Wege activer Immunisirung Schutzimpfungen relativ leicht und sicher durchzuführen sind, dann aber, und namentlich, dass für die Prüfung eines Immunserums in erster Linie Individuen der gleichen Art, wie die zur Antitoxinerzeugung benutzten Thiere, in Frage kommen dürften.

Der erste Versuch wurde an 5 Schafen und 2 Controlthieren ausgeführt.[1] Ich lasse zunächst die Protocolle folgen. (Tabelle VII.)

Tabelle VII.

Prüfung der Wirksamkeit des Milzbrandserums an Schafen.
(Hammelserum I und II.)

Hammel III.

Körpergewicht 51·5 kg.

Am 4. VIII. Injection von 50 ccm Hammelserum I u. II in das lockere Bindegewebe hinter den Ohren.

5. VIII. $^1/_{20}$ Oese virulenter Milzbrandcultur und 1 Tropfen frischen Milzbrandblutes unter die Rückenhaut.

7. VIII. An der Stelle der Milzbrandimpfung sehr starke, über handtellergrosse Infiltration von weicher Consistenz fühlbar. Thier sonst völlig munter.

10. VIII. Ausdehnung der Infiltration kaum geringer; die Consistenz derselben erscheint etwas derber. Thier frisst gut und ist munter.

16. VIII. An der Injectionsstelle nur noch kleiner, derber Knoten fühlbar.

[1] Die für diesen Zweck benutzten Thiere wurden mir durch gütige Vermittelung des Hrn. Geheimraths Kühn von der hiesigen Landwirthschaftskammer bereitwilligst zur Verfügung gestellt, wofür ich auch an dieser Stelle meinen ergebensten Dank aussprechen möchte.



Verhalten der Körpertemperatur während dieser Zeit.

	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15. VIII.
Morgens . . .	—	39·2	39·2	39·4	39·6	39·7	40·0	39·6	39·4	39·6	39·5	39·6	39·3
Mittags	—	39·7	39·4	39·2	39·5	39·5	40·1	39·5	39·4	39·5	39·4	39·4	39·5
Abends	39·3	39·5	39·6	39·3	39·9	39·3	39·8	39·6	39·5	39·7	39·5	39·6	39·3

Das Thier bleibt am Leben.

Hammel IV.

Körpergewicht 43 kg.

Am 4. VIII. Injection von 100 ccm Hammelserum I u. II, subcutan, hinter den Ohren.

5. VIII. $^1/_{20}$ Oese virulenter Milzbrandcultur und 1 Tropfen frischen Milzbrandblutes unter die Rückenhaut.

7. VIII. Kleine, weiche Geschwulst an der Injectionsstelle zu fühlen.

10. VIII. Infiltration unverändert, vielleicht etwas derber. Thier völlig munter.

16. VIII. Nichts mehr zu fühlen.

Verhalten der Körpertemperatur.

	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17. VIII.
Morgs.	—	39·1	39·2	39·4	39·8	41·0	41·1	39·8	39·7	39·5	39·6	39·3	39·4	39·5	39·5
Mittgs.	—	39·5	39·3	39·3	39·7	40·8	40·8	39·8	39·6	39·3	39·4	39·5	39·2	39·5	39·4
Abds.	39·0	39·2	39·5	39·4	40·0	40·6	40·6	39·7	39·7	39·5	39·5	39·3	39·3	39·3	39·2

Das Thier bleibt am Leben.

Hammel V.

Körpergewicht 46·5 kg.

Am 4. VIII., Mittags, Injection von 100 ccm Hammelserum I und II, subcutan, hinter den Ohren. Abends eine zweite Injection von 100 ccm unter die Bauchhaut, in der Gegend der rechten Schenkelbeuge.

5. VIII. $^1/_{20}$ Oese virulenter Milzbrandcultur und 1 Tropfen Milzbrandblut (Rückenhaut).

7. VIII. Thier völlig munter, ohne die geringsten Localerscheinungen.

10. VIII. An der Injectionsstelle keine Spur einer Infiltration nachzuweisen.

Verhalten der Körpertemperatur.

	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17. VIII.
Morgs.	—	39·0	39·4	39·6	40·1	39·7	39·8	39·4	39·4	39·4	39·3	39·4	39·6	39·4	39·2
Mittgs.	—	39·6	39·3	39·5	39·8	39·4	39·7	39·5	39·5	39·3	39·4	39·6	39·3	39·3	39·4
Abds.	39·2	39·5	39·5	39·4	40·0	39·5	39·6	39·4	39·5	39·3	39·6	39·4	39·5	39·5	39·3

Das Thier bleibt am Leben.



Hammel VI.

Körpergewicht 45 kg.

Am 4. VIII. Injection von 25 ccm Hammelserum I und II, subcutan, hinter den Ohren.

5. VIII. $^1/_{20}$ Oese virulenter Milzbrandcultur und 1 Tropfen Milzbrandblut unter die Rückenhaut. 10 Minuten später eine Seruminjection von 15 ccm (Bauchhaut).

6. VIII. 10 ccm Serum (Hammel I u. II) subcutan injicirt. Thier völlig munter, an der Impfstelle keine Infiltration fühlbar.

7. VIII. 10 ccm Serum injicirt. Keinerlei Localerscheinungen.

8. bis 10. VIII. Tägliche Injection von 10 ccm Hammelserum I u. II, an verschiedenen Stellen der Bauchhaut. Gesammtmenge des injicirten Serums = 90 ccm. Thier bleibt andauernd munter und ohne jede locale Reaction.

Verhalten der Körpertemperatur.

	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17. VIII.
Morgs.	—	39·0	38·9	39·2	39·9	40·8	40·6	40·3	39·5	39·6	39·6	39·4	39·5	39·2	39·3
Mittgs.	—	39·5	39·1	39·5	39·8	40·8	40·5	40·2	39·6	39·7	39·4	39·4	39·3	39·4	39·4
Abds.	39·2	39·5	39·4	39·4	40·8	40·5	40·6	40·3	39·6	39·5	39·5	39·5	39·5	39·6	39·2

Das Thier bleibt am Leben.

Hammel VII.

Körpergewicht 51 kg.

5. VIII. $^1/_{20}$ Oese virulenter Milzbrandcultur und 1 Tropfen Milzbrandblut unter die Rückenhaut. 1 Stunde später Injection von 100 ccm Hammelserum I u. II, subcutan, hinter den Ohren. Abends eine zweite Injection von 100 ccm unter die Bauchhaut.

6. VIII. Morgens u. Abends werden je 100 ccm Hammelserum injicirt (Bauchhaut). An der Impfstelle nichts fühlbar, Thier völlig munter.

7. VIII. Seruminjection von 50 ccm. (Rechte Schenkelbeuge.)

8. VIII. Seruminjection von 20 ccm. An der Stelle der Milzbrandimpfung kleiner, ca. bohnengrosser Knoten zu fühlen.

9. VIII. Seruminjection von 20 ccm.

10. VIII. Seruminjection von 20 ccm. Die Umgebung der Impfstelle (Milzbrand) weist eine ziemlich beträchtliche, mehr als handtellergrosse, weiche Infiltration auf. Das Thier ist sonst völlig munter.

Die Gesammtmenge des injicirten Serums beträgt 510 ccm.

12. VIII. Infiltration geht deutlich zurück und nimmt härtere Consistenz an. Thier andauernd munter.

16. VIII. Nur noch geringe Infiltration an der Injectionsstelle in Gestalt eines derberen Stranges zu fühlen.



Verhalten der Körpertemperatur.

	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17. VIII.
Morgs.	—	39·2	39·4	39·2	39·9	39·4	39·8	39·8	39·4	39·6	39·3	39·4	39·4	39·3	39·1
Mittgs.	—	39·4	39·3	39·6	39·7	39·5	39·8	39·7	39·6	39·2	39·5	39·5	39·3	39·4	39·0
Abds.	39·0	39·2	39·4	39·5	39·7	39·4	39·7	39·7	39·5	39·4	39·3	39·3	39·4	39·6	39·3

Das Thier bleibt am Leben.

Hammel VIII.

Körpergewicht 53 kg.

4. VIII. 100 ccm normales Hammelserum, subcutan, hinter den Ohren injicirt.

5. VIII. $^1/_{20}$ Oese virulenter Milzbrandcultur und 1 Tropfen Milzbrandblut (Rückenhaut).

6. VIII. Thier anscheinend munter, ohne Reaction an der Impfstelle.

7. VIII. Liegt Morgens 7 Uhr mit stark keuchender Athmung im Stalle. † um 9 Uhr, 47 Stunden nach der Infection.

Verhalten der Körpertemperatur.

	3. VIII.	4. VIII.	5. VIII.	6. VIII.	7. VIII.
Morgens	—	39·1	39·8	39·4	39·8
Mittags	—	39·6	39·5	39·5	—
Abends	39·0	39·5	39·6	39·7	—

Hammel IX.

Körpergewicht 32 kg.

4. VIII. 150 ccm normales Hammelserum, subcutan, hinter den Ohren injicirt.

5. VIII. $^1/_{20}$ Oese virulenter Milzbrandcultur und 1 Tropfen Milzbrandblut (Rückenhaut).

6. VIII. Thier vollkommen munter, keine Infiltration an der Injectionsstelle.

7. VIII. Todt im Stalle aufgefunden.

† 36 bis 42 Stunden nach der Infection.

Verhalten der Körpertemperatur.

	3. VIII.	4. VIII.	5. VIII.	6. VIII.
Morgens	—	38·8	39·0	39·3
Mittags	—	39·9	38·9	39·5
Abends	38·9	39·7	39·2	39·9



Sectionsbefund von Hammel VIII.[1]

Der Cadaver des Schafes ist mässig aufgetrieben. Die Todtenstarre fehlt, aus Nase, After und Scheide sind blutige Ausflüsse ersichtlich.

Die Schleimhäute an den Einstülpungen der äusseren Haut sind blauroth verfärbt; beim Abziehen der Haut macht sich eine strotzende Füllung der Gefässe mit dunklem theerfarbenen, leicht abfliessendem Blute bemerkbar.

Die Subcutis ist blutig infiltrirt. Diese Infiltrationen haben die Grösse von Erbsen. Sie finden sich im Unterhautzellgewebe, besonders an den Nasenflügeln, den Lippen, in der Umgebung der Rachenhöhle, der Schilddrüsen und der Luftröhre. Die Cutis zeigt braunrothe bis blaugraue Färbung.

Die Muskeln, welche durch den starken Gehalt an theerartigem Blute dunkles rothbraunes Colorit haben, zeigen schwarze Blutinfarcte von Linsengrösse.

In den serösen Körperhöhlen ist blutig-seröse Flüssigkeit in mässiger Menge enthalten und allenthalben sind subseröse Ecchymosen, welche asphyktische Blutungen documentiren.

Die Pleura ist mit Erstickungsblutungen wie besät. Einzelne Gruppen von Lymphdrüsen (so besonders am Kopf und Darm) sind vergrössert, mit schwarzem Blute gefüllt, saftreich und von Blutungen durchsetzt.

Die Milz ist acut hyperämisch geschwellt, sie ist auf das Vierfache vergrössert. Die Kapsel ist prall gespannt. Die Pulpa ist blutreich, zerfliesslich weich, tief schwarzroth, von den Trabekeln und Follikeln ist nichts mehr erkennbar.

Das Herz zeigt auf der Oberfläche fleckige Blutungen, das Endocardium ist blutig imbibirt. Das Blut des Herzens hat eine tiefschwarze Färbung, es färbt stark ab, in dünner Schicht tief braunroth, schlecht geronnen.

Der Chymus ist blutgemischt und von röthlich-grauer Färbung.

Einzelne Schleimhautfalten des Labmagens sind geschwollen und roth gefärbt.

Die Dünndarmschleimhaut ist roth gefärbt, geschwollen, blutig infiltrirt. Die Mastdarmschleimhaut ist nicht verändert. Hämorrhagische Infarcte finden sich neben allgemeiner, übermässiger, venöser Blutfülle in der Leber und den Nieren. Blutüberfüllung und Austretungen von Blut sind auch an der Schleimhaut der Luftwege erkennbar. Die Umgebung des Kehlkopfeinganges ist ödematös verändert.

Die Trachea enthält schaumigen, ziegelmehlfarbenen Inhalt. Es besteht starkes Lungenödem. Die Lungen sind subpleural ecchymosirt, diffus blauroth.

Bakteriologischer Befund: Im Blute massenhaft Milzbrandbacillen.

Sectionsbefund von Hammel IX.

Mässige Auftreibung der Leiche. Todtenstarre fehlt. Aus Nase und Maulhöhle blutige Ausflüsse. Schleimhäute an den Einstülpungen der äusseren Haut cyanotisch verfärbt. Gefässe der Unterhaut strotzend mit theerartigem Blute gefüllt. Die Impfstelle hinten links schwach sulzig infiltrirt. Im Unterhautbindegewebe keine Blutinfiltrationen. Muskeln ohne Blutinfarcte.

[1] Diese, wie alle folgenden Sectionen sind durch Hrn Dr. Schmidt, Assistenten der hiesigen Veterinärklinik, ausgeführt worden, dem ich auch für die Protocollirung der Befunde zu besonderem Danke verpflichtet bin.



In den serösen Körperhöhlen findet sich blutig-seröse Flüssigkeit in mässiger Menge vor. Die Lungenpleura zeigt an ihrer ganzen Fläche asphyktische Blutungen.

Viele Gruppen von Lymphdrüsen vergrössert, mit schwarzem Blute angefüllt und mit herdartigen Blutungen durchsetzt.

Milz acut hyperämisch geschwellt, um das Vierfache vergrössert. Pulpa fast flüssig, tief schwarzroth, von Trabekeln und Follikeln nichts erkennbar.

Das Herz hat auf der Oberfläche fleckige Blutungen. Dasselbe enthält nur sehr wenig, nicht geronnenes theerartiges Blut. Darmerscheinungen sind nicht vorhanden, vor Allem fehlen Darmcarbunkel.

Leber unverändert.

Nieren befinden sich im Zustande einer starken hämorrhagischen Nephritis. Blutaustritte unter die Nierenkapseln.

Bakteriologischer Befund: Zahlreiche Bacillen im Blut und Milzsaft.

Diese Ergebnisse bedürfen wohl kaum eines weiteren Commentars. Während die beiden, mit normalem Hammelserum vorbehandelten Controlthiere der Infection innerhalb kürzester Frist und unter typischen Erscheinungen schutzlos zum Opfer fielen, vermochten die 5 übrigen Schafe, welche Milzbrandserum in verschiedenen Mengen, theils durch einmalige, theils wiederholte Injectionen, erhalten hatten, die Probeimpfung mit dem gleichen, vollvirulenten Materiale unter geringfügigen Local- und Allgemeinreactionen sicher zu überstehen. Es war dies ohne Frage ein Erfolg, wie er bei den früheren Versuchen an Kaninchen unter keinen Umständen auch nur annähernd erreicht worden war, und, wenn selbst die bei Schafen verwendeten Serummengen vielleicht als besonders hohe erschienen, so standen sie immer noch, im Verhältnisse zum Körpergewichte der Versuchsthiere, um ein Beträchtliches hinter denjenigen zurück, welche bei der erstgenannten Thierart völlig unzulängliche Resultate ergeben hatten. Ja, noch mehr. Die überlebenden Schafe erhielten nach einiger Zeit, nach 2 bis $2^1/_2$ Monaten, eine zweite Dosis virulenter Milzbrandcultur injicirt und erwiesen sich auch hiergegen als völlig immun, ein Befund, der zu den bei Kaninchen gemachten Erfahrungen in schroffstem Gegensatze stand und die Möglichkeit gewährte, die Thiere nun zu weiterer, activer Immunisirung und zur Gewinnung eines specifisch wirksamen Serums zu benutzen. Dass dieses in gewünschter Weise gelang, ist bereits an früherer Stelle erwähnt worden (vgl. Tabelle III).

Die ganz besondere Bedeutung dieser erfolgreichen Serumimmunisirung glaube ich aber in der einwandfreien und voll beweiskräftigen Feststellung erblicken zu dürfen, dass auch der Milzbrand, der klassische Vertreter der rein septicämischen Infectionskrankheiten, in dem Organismus von Thieren, welche einen hohen Grad activer Immunität erlangt haben,

specifische Schutzstoffe entstehen lässt, und zwar in solchen Mengen und von solcher Wirksamkeit, dass deren Uebertragung auf andere Thiere diesen letzteren gleichfalls sicheren Impfschutz zu verleihen vermag. Freilich spielen, wie wir sahen, bei der passiven Immunisirung, mehr noch als bei der activen, gewisse Besonderheiten der einzelnen Thierarten eine sehr gewichtige Rolle, und, wenn auf diesem Wege lediglich bei Schafen etwas Zuverlässiges erreicht werden konnte, so haben wir es eben bei dem Milzbrande mit Verhältnissen zu thun, welche von den bei anderen Infectionen beobachteten Dingen nicht unerheblich abweichen und entschieden ein lebhaftes wissenschaftliches Interesse beanspruchen dürfen. Wir stehen vor der seltenen, bisher wohl überhaupt einzigen Thatsache, dass unter einer grossen Reihe vollempfänglicher Thierarten nur einige wenige activ, eine noch geringere Zahl passiv gegen die betreffende Infection geschützt werden können, während alle anderen den sorgfältigsten Schutzimpfungsversuchen hartnäckig zu trotzen pflegen. Wenn auch sonst, z. B. beim Tetanus, verschiedene Thierarten Differenzen der angedeuteten Natur in mehr oder minder beträchtlichem Umfange zu äussern vermögen, so lassen dieselben doch niemals eine so strenge Scheidung erkennen, wie dies bei dem Milzbrande der Fall, und die Wahrnehmung, dass die eine Thierart leicht und sicher, eine zweite mit geringerem Erfolge, eine dritte überhaupt niemals die Möglichkeit künstlicher Immunisirung bietet, ist wohl geeignet, unseren Vorstellungen von dem Wesen der Immunität neue und weitere Gesichtspunkte zu eröffnen.

Daher scheinen namentlich die bei der passiven Immunisirung festgestellten, nach Art und Individuum so ausserordentlich schwankenden Ergebnisse eine grössere Beachtung zu beanspruchen, weil sie die Frage nach der Wirkungsweise des Milzbrandserums unserem Verständnisse näher bringen. Es lehren diese Versuche mit überzeugender Klarheit, dass unmöglich eine directe Einwirkung der specifischen Schutzstoffe des Serums auf das Milzbrandvirus stattfinden kann, wie man dies z. B. für das Verhalten einer Reihe antitoxischer Sera (Diphtherieserum, Tetanusserum u. a.) gegenüber dem entsprechenden Toxin wahrscheinlich gemacht hat, vielmehr muss es erst der thierische Organismus sein, welcher die Schutzwirkung der specifischen Antikörper durch geeignete Ausnutzung der letzteren vermittelt und somit, entsprechend seiner grösseren oder geringeren Reactionsfähigkeit, auch bei dem Zustandekommen der „passiven“ Serumimmunität in höchst activer und bedeutsamer Weise betheiligt ist. Anders wenigstens liesse es sich schwer beweisen, weshalb die gleichen Serummengen gegenüber der gleichen Milzbranddosis dem einen Thiere Schutz zu verleihen vermögen, dem anderen dagegen nicht, und man wird kaum



fehl gehen, wenn man hier an ähnliche Vorgänge denkt, wie sie für das Choleraserum, das Typhusserum und andere antibakterielle Immunsera angenommen werden müssen und in der bekannten Pfeiffer'schen Hypothese zum Ausdruck gelangen.

In Uebereinstimmung mit der hier vorgetragenen Anschauung entbehrt das Milzbrandserum ausserhalb des Thierkörpers jedes nachweisbaren specifischen Einflusses auf Milzbrandbakterien und äussert, wie bereits früher festgestellt, weder baktericide, noch agglutinirende Fähigkeiten in irgendwie stärkerem Grade als normales Serum der gleichen Thierart. Auch das schutzkräftigste Serum der hochimmunen Schafe, welches von mir wiederholt auf die Anwesenheit antibakterieller Stoffe geprüft wurde, übte, wie normales Hammelserum, meist nur schwache entwickelungshemmende Wirkungen aus, ohne jemals im Stande zu sein, eine sichere Abtödtung selbst kleinerer Bakterienmengen herbeizuführen. Ebenso wenig ist es mir gelungen, specifisch agglutinirende Eigenschaften aufzudecken. Es vermag zwar das Milzbrandserum Milzbrandbacillen bisweilen nach Form und Lagerung in einer Weise zu verändern, welche eine gewisse Aehnlichkeit mit dem Agglutinationsprocess bei anderen Mikroorganismen darbietet, nur habe ich nicht die Ueberzeugung gewinnen können, dass es sich hierbei um streng specifische, dem Immunserum als solchem zukommende antibakterielle Aeusserungen handelt. Die gleichen, qualitativ und quantitativ von den eben erwähnten, kaum unterscheidbaren Vorgänge liessen sich auch in manchem normalen Hammelserum beobachten.

Von vielen Versuchen sei nur einer mitgetheilt, welcher das eben Gesagte klar illustriren dürfte (Tabelle VIII).

Zur Erläuterung dieser Tabelle ist zu bemerken, dass das benutzte Immunserum vom Hammel Nr. I, und zwar nach der Verimpfung von 4 Massenculturen, gewonnen worden war. Die Prüfung wurde, wie stets, sowohl im hängenden Tropfen, wie im Reagensglase vorgenommen, wobei sich die erste Art der Untersuchung besser bewährte und scheinbar günstigere Resultate lieferte. Der in der Tabelle VIII angegebene Befund bezieht sich auf die im hängenden Tropfen, nach 18 stündigem Aufenthalte im Brütschranke, beobachteten Veränderungen.

Wie man sieht, erfolgte die Entwickelung virulenter Milzbrandbakterien in den drei Nährmedien, Immunserum, normalem Hammelserum und Bouillon, in recht verschiedener Weise. Während das Wachsthum in Bouillon ein vollkommen typisches war, fand in dem Milzbrandserum ausgesprochene, in dem normalen Serum nur schwach angedeutete Agglutination statt, eine Thatsache, die vielleicht zu Gunsten specifischer



Tabelle VIII.
Einfluss des Milzbrandserums (Schaf) und normalen Hammelserums auf Milzbrandbacillen (12stündige Agarculturen) **ausserhalb** des Thierkörpers. Beobachtung im hängenden Tropfen nach 18stünd. Einwirkung.

	Milzbr., virulent	Milzbr., Pasteur II	Milzbr., Pasteur I
Hammelserum I	Haufen und unförmige Massen stark degenerirter und gequollener Elemente. Keine Sporenbildung.	Gequollene Fäden, ausgesprochene Haufenbildung. Keine Sporen.	Stäbchen und Fäden leicht gequollen, Neigung z. Haufenbildung. Reichl. Sporenbildung.
Normales Hammelserum	Längere Fäden, leicht gequollen, z. Theil in dichteren Knäueln und Verbänden. Haufenbildung angedeutet. Sporen vorhanden, aber spärlich.	Ausgesprochene Haufenbildung stark gequollener Stäbchen und Fäden. Keine Sporen.	Stäbchen und Fäden von normaler Beschaffenheit, Sporenbildung.
Bouillon	Typisches Wachsthum. Längere, schlanke Fäden; zahlreiche Sporen.	Dichte Fädenknäuel, Haufenbildung angedeutet. Keine Sporen.	Stäbchen und Fäden von typischem Aussehen. Sporenbildung im Beginn.

Wirkungen in dem erstgenannten Serum ausgelegt werden konnte. Dass eine derartige Annahme aber sicher unzutreffend gewesen wäre, ergiebt sich aus dem Verhalten der beiden Serumarten gegenüber anderen Milzbrandstämmen, nämlich den abgeschwächten Culturen des Vaccin I und II (Pasteur). Hier war von specifischen Einflüssen nichts zu erkennen, vielmehr in dem einen Falle (Vaccin II) sowohl im Immun-, wie im normalen Serum gleich energische Agglutination zu constatiren, während die zweite Cultur (Vaccin I) zwar nur durch das specifische Serum beeinflusst wurde, jedoch in so geringem Maasse, dass die Entwickelung und Lagerung der Bakterien von der gewöhnlichen Art des Wachsthums kaum eine auffällige Abweichung zeigte. Hätte es sich wirklich bei der virulenten Cultur um eine auf specifischen Agglutinationsvorgängen beruhende Beeinflussung gehandelt, so wäre eine solche gegenüber den abgeschwächten Arten sicherlich noch weit deutlicher und energischer zur Geltung gelangt. Wenigstens sprechen die Erfahrungen mit anderen Mikroorganismen für diese Annahme.

Es sei bemerkt, dass Sawtchenko[1] in letzter Zeit zweifellos den Mangel specifisch baktericider, sowie agglutinirender Eigenschaften bei dem Milzbrandserum festgestellt hat. Ein vom Pferde gewonnenes Immunserum vermochte zwar Milzbrandbacillen deutlich zu agglutiniren, doch

[1] *Annales de l'Institut Pasteur.* 1897. T. XI.

wurde die gleiche Wirkung auch von normalem Pferdeserum ausgeübt, während Hundeserum, gleichgültig, ob einem unbehandelten, oder einem gegen Milzbrand immunisirten Individuum entstammend, überhaupt niemals einen Einfluss der angedeuteten Art erkennen liess.

Dagegen möchte ich eine andere morphologische Eigenthümlichkeit nicht unerwähnt lassen, welcher ich unter den verschiedensten Bedingungen wiederholt begegnet bin und welche dadurch charakterisirt ist, dass Milzbrandbacillen unter der Einwirkung des Hammelserums, sowohl ausserhalb wie innerhalb des Thierkörpers, zur Aufquellung und Auffaserung gebracht werden. Es stellt sich dieser Vorgang gewöhnlich in der Weise dar, dass die Stäbchen, oder vielmehr die zu längeren Fäden ausgewachsenen Elemente zunächst verdickt erscheinen und namentlich eine Aufquellung der äusseren Schicht erkennen lassen, wodurch der Eindruck einer Kapsel hervorgerufen wird. Diese Kapsel pflegt dann weiterhin eine Lockerung und Auffaserung zu erfahren, so dass in einzelnen Abständen feine, gekräuselte, fadenartige Fortsätze sich von der Bakterienhülle absondern, dem Ganzen ein eigenthümlich „zerzaustes" Aussehen verleihen und ein Bild schaffen, welches bei oberflächlicher Betrachtung an die Cultur einer Leinwandfaser erinnern könnte. Am besten lassen sich diese Verhältnisse bei der Untersuchung im hängenden Tropfen erkennen, doch vermag auch das gefärbte Präparat meist genügenden Aufschluss zu geben.

Ueberträgt man geringe Mengen von Milzbrandkeimen in ein Röhrchen mit Hammelserum, so sind mit der fortschreitenden Bakterienentwickelung, unter Umständen schon nach 5, 6 Minuten, die angedeuteten morphologischen Veränderungen zu beobachten, aber, um dies nochmals ausdrücklich zu betonen, keineswegs etwa regelmässig. Eine Reihe verschiedener Hammelsera gaben das Phänomen, andere nicht, oder höchstens in unvollkommener Andeutung, ohne dass eine Ursache für dieses differente Verhalten gefunden werden konnte. Vor allen Dingen traten zwischen dem Serum normaler Thiere und demjenigen der hochimmunisirten Schafe keine constanten oder überhaupt erheblicheren Unterschiede zu Tage, ein Umstand, der von vornherein jede specifische Deutung ausschliessen musste und offenbar darauf hinwies, dass wir es hier lediglich mit gewissen, dem Hammelblute als solchem bisweilen innewohnenden, bakterienschädigenden Kräften zu thun haben.

Aehnliches, wie im Reagensglase, scheint auch innerhalb des thierischen Organismus eintreten zu können. So war es beispielsweise möglich, bei Gelegenheit der sogleich näher zu besprechenden, in der Form der Pfeiffer'schen Reaction ausgeführten Serumimpfungen (Tabelle IX) in der Peritonealflüssigkeit von Meerschweinchen genau die gleichen morphologischen Veränderungen an einer grösseren Zahl von Milzbrandbakterien zu entdecken.



Einfluss des Milzbrandserums (Schaf) und normalen Hammelserums auf Milzbrandbacillen **innerhalb** des Thierkörpers (Pfeiffer'sche Reaction). **A. Meerschweinchen.**

Nummer	Gewicht in grm	Intra-peritoneale Injection	Mikroskopischer Befund der Peritonealflüssigkeit, mittels Glascapillaren entnommen nach: 5 Minuten	10 Minuten	20 Minuten	40 Minuten	3 Stunden	Bemerkungen
1	220	1 Oese Milzbrand virul. + 1 ccm normal. Hammelserum	Milzbrandbacill. ziemlich zahlr., daneben viele Leukocyten. Keine Phagocytose	Zahl und Form der Stäbchen anscheinend unverändert; desgl. das Verhalten der Leukocyten	Zahlreiche Milzbrandbacill. Keine Phagocyten.	Status idem	Milzbrandbac. in mässiger Zahl, massenhaft Leukocyten, spärliche Phagocyten	† 12—20 Std. Ausgedehntes Oedem d. Bauchhaut, starke Peritonitis, geringes hämorrhagisches Exsudat; massenh. freie Milzbrandbacillen, keine Phagocyten.
2	220	1 Oese Milzbrand virul. + 1 ccm Hammelserum I	Zahlreiche Milzbrandbacillen, morphologisch unverändert, reichlich Leukocyten	Derselbe Befund wie vorher, keine Phagocytose	Bacillen in ziemlich reicher Zahl, ohne erkennbare Veränderungen	—	Massenhaft Leukocyten, Bacillen spärlich, vereinzelte Phagocyten	† 29 Std. Geringes Oedem; in dem peritonit. Exsudat zahlr. Milzbrandbac., vielfach in Fäden, sowie im Innern von Leukocyten.
3	200	1 Oese Milzbr. Pasteur I + 1 ccm normal. Hammelserum	Exsudat sehr leukocytenreich, zahlreiche Milzbrandbacillen, darunter viele in Phagocyten	Milzbrandbacill. in mässiger Zahl, wenig Leukocyt.	Ziemlich zahlr. Stäbchen, Leukocyten ganz spärlich, keine Phagocyten	—	—	† 20—26 Std. Ziemlich reichlich peritonitisches Exsudat mit zahlreichen Milzbrandbacillen; keine Phagocyten.
4	200	1 Oese Milzbr. Pasteur I + 1 ccm Hammelserum I	Zahlreiche Milzbrandbacillen, sehr vereinzelte Leukocyten und Phagocyten	Sehr wenige zellige Elemente, Bacillen, morphologisch unverändert, in mässiger Zahl	—	Zahlreiche Milzbrandbacillen, keine Zellen sichtbar	Massenhaft Leukocyten, ganz vereinzelte Stäbchen, gequollen u. „aufgefasert“	† 34—42 Std. Mässiges Oedem der Bauchhaut, geringes Exsudat. Milzbrandbac., vielfach in Fäden, nicht sehr zahlr. Vereinzelte Phagocyten.
5	230	1/2 Oes. Milzbr. Pasteur I + 1 ccm Hammelserum I	Zahlreiche Milzbrandbacillen, einzelne in Zellen eingeschlossen, Leukocyten in mässiger Zahl	Gut erhaltene Stäbchen in reicher Menge, sehr wenig zellige Elemente	Keine Veränderung	Zahlr. Stäbchen, gut erhalten. Keine Zellen	Massenhaft Leukocyten, sehr wenige „aufgefaserte“ Stäbch.	† 53 Std. Sehr geringes Exsudat, Milzbrandbac. in spärlicher Zahl, desgl. Leukocyten.

Tabelle IX. (Fortsetzung.)

B. Kaninchen.

Nummer	Gewicht in grm	Intra-peritoneale Injection	Mikroskopischer Befund der Peritonealflüssigkeit, mittels Glascapillaren entnommen, nach:				Bemerkungen
			5 Minuten	15 Minuten	30 Minuten	$2^1/_2$ Stunden	
1	1450	1 Oese Milzbr., virul. + 2·5 ccm Bouillon	Zahlreiche Milzbrandbacillen, kein einziger Leukocyt zu entdecken	Zahlreiche, gut erhaltene freie Stäbchen, keine Zellen	Milzbrandbacillen in sehr geringer Zahl. Weder Phagocyten noch sonstige Zellen.	Ganz vereinzelte Milzbrandstäbch. Massenhaft Leukocyten, auch Phagocyten	† 28—36 Stunden. Geringe Mengen eines klaren peritonitischen Exsudates vorhanden, welches ebenso wie Blut u. Milzsaft eine enorme Zahl von Milzbrandbacillen enthält.
2	1500	1 Oese Milzbr., virul. + 2·5 ccm normales Hammelserum	Keine Milzbrandbacillen. Keine Leukocyten	Befund wie vorher	Massenhaft Leukocyten. Bakterien nicht zu sehen	Keine Veränderung	† 43 Std. Kein Exsudat. Milzbrandbacillen in Blut und Milz in mässiger Zahl. Keine Phagocyten.
3	1380	1 Oese Milzbr., virul. + 2·5 ccm Hammelserum II	Morphologisch unveränderte Milzbrandbacillen in ziemlich reicher Zahl. Keine Leukocyten	Keine Veränderung	Milzbrandbacillen noch immer in grösserer Anzahl vorhanden, einzelne im Innern v. Phagocyten	Keine Stäbchen mehr zu entdecken. Zahlreiche Leukocyten	† 50—58 Stunden. Geringes klares Exsudat. Zahlreiche Milzbrandbacillen. Keine Phagocyten.
4	1450	$^1/_2$ Oese Milzbr., virul. + 2·5 ccm Hammelserum II	Keine Milzbrandbacillen, ebensowenig zellige Elemente	Keine Veränderung	Keine wesentliche Veränderung. Einzelne Leukocyten treten auf	Ganz spärliche Stäbchen, dagegen viele Phagocyten, auch Leukocyten	† 28—36 Stunden. Geringes klares Exsudat. Massenhaft Milzbrandbacillen. Keine Phagocyten.

Inwieweit ein derartiger Einfluss auch dem Serum anderer Thierarten zukommt, vermag ich aus eigener Anschauung nicht mit Bestimmtheit anzugeben, da meine auf diesen Punkt gerichteten Untersuchungen noch zu wenig zahlreich sind, um ein einigermassen zuverlässiges Urtheil zu gestatten.[1] Jedenfalls zweifle ich nicht daran, dass die von anderer Seite gelegentlich constatirten und neuerdings von Sawtchenko[2] über die Wirkung des Rattenserums auf Milzbrandbacillen berichteten Beobachtungen durchaus identischer Natur sind und den Beweis für eine allgemeinere Verbreitung jener auch im Hammelblute vorhandenen antibakteriellen Stoffe erbringen dürften.

Um nämlich schliesslich in Erfahrung zu bringen, ob etwa innerhalb des Thierkörpers ein Einfluss von besonderer Art Seitens des Milzbrandserums auf Milzbrandbakterien zu beobachten sei, wurden eine Reihe von Versuchen nach dem Vorgange Pfeiffer's in der Weise angestellt, dass bestimmte Serummengen mit einer abgemessenen Quantität sporenfreier Milzbrandcultur im Reagensglase gemischt und nun Meerschweinchen und Kaninchen intraperitoneal injicirt wurden. Neben virulenten Bakterien gelangten bei Meerschweinchen auch abgeschwächte (Pasteur's Vaccin I) zur Verwendung, ausserdem wurde zur Controle in allen Fällen die Wirkung gewöhnlicher Nährbouillon und normalen Hammelserums auf die betreffende Milzbranddosis festgestellt. Die Untersuchung des in verschiedenen Intervallen mittels Glascapillaren entnommenen peritonitischen Exsudates erfolgte vorwiegend im hängenden Tropfen.

Tabelle IX, A und B, giebt das Resultat einer dieser mehrfach wiederholten Prüfungen wieder und zeigt deren Erfolglosigkeit. Weder eine charakteristische morphologische Umwandelung, etwa im Sinne einer Granulabildung, noch sonstige Veränderungen specifischer Natur konnten unter dem Einflusse des Milzbrandserums wahrgenommen werden, und auch eine erhöhte und beschleunigte Phagocytose, wie sie Marchoux[3] bei ähnlich ausgeführten Untersuchungen als eine Folge specifischer Serumwirkung beobachtet haben will, scheint nach den hier mitgetheilten Befunden nicht unter allen Umständen eintreten zu müssen. Der Zufall wollte, dass z. B. gerade dasjenige Kaninchen (Nr. 2), welches die Milzbranddosis gleichzeitig mit normalem Hammelserum erhalten hatte, am allerfrühesten Leukocyten, und sogar in sehr reicher Zahl, in der Peritonealflüssigkeit

---

[1] Die früher (*diese Zeitschrift*, Bd. XXV, S. 313) beobachteten und mitgetheilten Befunde, wie sie unter besonderen Verhältnissen bei der Section verschiedener Thiere (Mäuse, Meerschweinchen, Kaninchen) erhoben werden konnten, sind höchst wahrscheinlich unter dem gleichen Gesichtspunkte zu betrachten.

[2] A. a. O.

[3] A. a. O.

aufwies, während bei allen übrigen Thieren meist erst in einem späteren Stadium und bereits nach dem Verschwinden oder beträchtlicher Verminderung der eingeführten Milzbrandkeime Leukocyten und Phagocyten zu erscheinen pflegten. Das einzige positive Ergebniss bestand in der bereits erwähnten, bei einigen Meerschweinchen gefundenen Aufquellung und Auffaserung der Bakterien.

Neben den bisher erörterten Verhältnissen, welche in erster Linie ein rein theoretisch-wissenschaftliches Interesse boten, drängte der Nachweis der specifischen Leistungsfähigkeit des Milzbrandserums begreiflicher Weise aber zur Entscheidung einer weiteren, nicht minder bedeutsamen Frage, ob es nämlich, und innerhalb welcher Grenzen, etwa möglich sei, diese im Laboratoriumsversuche gewonnenen Erfahrungen nun auch praktischen Zwecken nutzbar zu machen und zu einem einfachen, sicher wirksamen Schutzimpfungsverfahren zu gestalten. Wenn ich hierbei lediglich die immunisirenden Fähigkeiten des Milzbrandserums im Auge hatte, von einer Verwendung desselben zu Heilzwecken dagegen zunächst Abstand nehmen zu sollen glaubte, so geschah dies hauptsächlich deshalb, weil eine Infection, welche bei spontan erkrankten Thieren, Rindern und Schafen, ausserordentlich rasch und meist ohne deutlich ausgeprägte Krankheitserscheinungen zum Tode zu führen pflegt, naturgemäss nur in seltenen Fällen die Möglichkeit eines rechtzeitigen therapeutischen Eingriffes wird bieten können. Für den Erfolg eines Heilserums ist aber gerade früheste Anwendung, mehr als bei irgend einem anderen Mittel, von ausschlaggebender Bedeutung. Auch beim Menschen scheinen mir die Bedingungen nicht wesentlich günstiger zu liegen. Abgesehen davon, dass Milzbranderkrankungen der Menschen, im Vergleich zum Milzbrand der Thiere, überhaupt nur eine relativ geringe Verbreitung und Bedeutung beanspruchen, ist hier der Verlauf für eine Serumbehandlung nicht sonderlich geeignet. Entweder nimmt der Process sehr rasch den Charakter der Allgemeininfection an, um unter stürmischen Erscheinungen tödtlich zu endigen, meist ehe die Krankheit nach ihrem eigentlichen Wesen erkannt worden war — dann kann eben aus leicht ersichtlichen Gründen die therapeutische Verwerthung des Milzbrandserums nicht einmal versuchsweise in Frage kommen —, oder aber es tritt alsbald eine Localisation des Virus ein, in der bekannten Form der Pustula maligna. In diesem letzteren Falle wird, im Vergleich zu der wohl ausnahmslos letal endigenden Allgemeininfection, die Prognose schon an und für sich nicht unerheblich gebessert und in Folge dessen die Beurtheilung therapeutischer Maassnahmen vor grosse Schwierigkeiten gestellt. Es gehen erfahrungsgemäss eine grössere Zahl derartiger localisirter Milzbrandinfectionen beim Menschen in Heilung über und, wenn



unter diesen Fällen sich gelegentlich einmal auch solche befinden, welche mit dem Serum milzbrandimmuner Thiere behandelt worden sind, so würde daraus, wie ich glaube, nicht ohne Weiteres der specifische Heilwerth des Milzbrandserums gefolgert werden dürfen. Hierüber könnten eben nur Beobachtungen Aufschluss geben, welche in grösserem Umfange, als dies bisher geschehen, und auf breitester Basis an einem möglichst zahlreichen Krankenmateriale gewonnen werden und damit jede andere Deutung, namentlich das Moment des Zufalles, mit höchster Wahrscheinlichkeit auszuschliessen im Stande sind. Deshalb wird man den bisher vorliegenden Mittheilungen über erfolgreiche Serumtherapie des Milzbrandes beim Menschen, wie sie auf Grund vereinzelter, oder wenigstens nicht sehr zahlricher, günstig verlaufener Krankheitsfälle von Sclavo,[1] Mendez und Lemos,[2] Pizzini,[3] Simula[4] u. A. bekannt gegeben worden sind, nach meiner Ansicht zunächst noch eine vorsichtigere Beurtheilung zu Theil werden lassen müssen.

Wollte man daran denken, das Verfahren der passiven Immunisirung mit Erfolg zu prophylaktischen Schutzimpfungen zu benutzen, so müsste man, wie ich bereits an anderer Stelle[5] ausgeführt, von dem Milzbrandserum noch eine Reihe in praktischer Hinsicht wichtiger Eigenschaften verlangen, vor allen Dingen einen möglichst hohen Gehalt an specifisch wirksamen Antikörpern. Serummengen von 50, 100 und noch mehr Cubikcentimetern, wie sie von mir zur Behandlung der Schafe gewählt worden waren, konnten eben nur unter den günstigen Verhältnissen eines Laboratoriumsversuches an einer relativ kleinen Zahl von Thieren zur Verwendung gelangen, während für eine Durchführung derartiger Serumimpfungen im Grossen aus den verschiedensten Gründen nothwendiger Weise weit geringere Dosen ausreichend sein müssten. Nun hatten mir weitere Versuche gezeigt, dass auch schon 20, ja 10 ccm und vielleicht noch kleinere Mengen meines Milzbrandserums Schafe gegen die sonst tödtliche Infection zu schützen vermochten, und von anderer Seite, auch Sclavo,[6] waren inzwischen gleichfalls an jüngeren Thieren einer voll-

[1] La sicroterapia del carbonchio ematico. *Riv. d'Igiene e Sanità Pubblica.* 1898. Nr. 6.

[2] El sucro anticarbuncloso. *Riv. de la Sociedad Med. Argentina.* 1898. Nr. 29.

[3] Due casi di carbonchio curati col sicro Sclavo. *Riv. d'Igiene e Sanità Pubblica.* 1897.

[4] Vgl. Sanna del Rio, Di un nuovo caso di pustola maligna curata con il sicro anticarbonchioso. *Gaz. degli Ospedali e delle cliniche.* 1898. Nr. 79.

[5] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXV. S. 353, 354.

[6] La sicroterapia del carbonchio esterno dell'uomo. *Riv. d'Igiene e Sanità Pubblica.* 1898. Nr. 22/23.



empfänglichen Schafrasse mit Serumdosen von 10 und 20 ccm erfolgreiche Schutzimpfungen ausgeführt worden. Von praktischer Bedeutung wird indessen eine endgültige Entscheidung dieser Frage erst dann sein, wenn es gelingt, an kleineren Versuchsthieren, oder vielleicht auch ausserhalb des Thierkörpers, im Reagensglase den Antitoxingehalt des Milzbrandserums durch einen einfach und sicher functionirenden Prüfungsmodus zu ermitteln. Denn die erste Vorbedingung einer experimentell begründeten und aussichtsvollen Serumtherapie oder Serumprophylaxe wird stets die genaue Werthbestimmung des betreffenden Serums sein müssen, und, so lange wir bezüglich des Milzbrandserums zu diesem Zwecke ausschliesslich auf die Verwendung grösserer und relativ kostbarer Thiere, wie Schafe, angewiesen sind, wird man sich bei unbefangener Beurtheilung vor allzu weitgehenden Hoffnungen zu hüten haben.

Dagegen schien mir eine andere, für die allgemeinere Verwendung des Milzbrandserums recht bedeutsame Eigenschaft weiterer Aufklärung werth zu sein. Die Serumimmunität, welche sich ganz allgemein als ein Zustand von mehr oder minder transitorischem Charakter darzustellen pflegt, würde auch für den Milzbrand im Besonderen, wenigstens nach den bei Kaninchen erhobenen Befunden, keineswegs eine für alle praktischen Zwecke ausreichende Dauer in Aussicht stellen und daher eigentlich nur dann in Frage kommen können, wenn es sich um die Aufgabe handelte, bedrohte Individuen durch möglichst rasche Immunisirung zunächst der unmittelbaren Gefahr einer Infection zu entziehen, also etwa in einer Gegend, einem Gehöft, einem Stalle, wo plötzlich Milzbranderkrankungen aufgetreten sind, die übrigen noch nicht befallenen Thiere des Bestandes zu schützen. Für einen länger dauernden Impfschutz dagegen, wie er z. B. überall da, wo der Milzbrand endemisch herrscht, unbedingt gefordert werden müsste, könnte die Serumimmunisirung nach allen unseren Erfahrungen nicht ausreichen.

In dem Bestreben, hier einen Ausweg zu finden und, wenn möglich, auf künstlichem Wege der sicheren und raschen Wirkung des Milzbrandserums nun auch einen beständigeren Charakter zu verleihen, versuchte ich ein Verfahren, welches bei anderen Infectionen, z. B. Schweinerothlauf und Rinderpest, bereits mit bestem Erfolge zur Durchführung gelangt ist, nämlich die Combination activer und passiver Immunisirung. Durch gleichzeitige oder innerhalb kurzer Zeit einander folgende Impfungen mit Immunserum und virulentem Infectionsstoffe ist es bekanntlich bei den genannten Seuchen gelungen, Thieren einen Impfschutz zu verleihen, welcher mit den Vorzügen der passiven, auch die der activen Immunisirung in wünschenswerthem Maasse vereinigte. In ähnlicher Weise wollte ich beim Milzbrand vorgehen und die durch combinirte Serum- und Virus-



injectionen voraussichtlich zu erzielende Immunität ganz besonders auf die Dauer ihrer Wirksamkeit prüfen. Da es aber begreiflicher Weise, namentlich in Hinblick auf die Möglichkeit einer späteren praktischen Verwerthung der Methode, als höchst bedenklich angesehen werden musste, die zur Vorbehandlung erforderlichen Culturen in der Form vollvirulenter Milzbrandstämme zu wählen, so benutzte ich von vornherein für den angedeuteten Zweck eine Cultur, welche in ihrer Pathogenität eine gewisse Abschwächung erfahren hatte und etwa dem Virulenzgrade der Pasteur'schen Vaccin II entsprach. Ich ging dabei von der Anschauung aus, dass ein derartiger Milzbrandstamm, welcher erfahrungsgemäss für eine grosse Zahl von Schafen noch stark infectiöse Eigenschaften zu besitzen pflegt, einerseits durch eine gleichzeitige Seruminjection seiner deletären Wirkung beraubt werden könne, andererseits aber auch nach den bei der activen Immunisirung festgestellten Beobachtungen ausreichend sein müsse, gegen die Infection mit virulentesten Material sicheren Impfschutz zu verleihen.

Die Versuchsanordnung gestaltete sich in der Weise, dass das Milzbrandserum, in der Menge von 16 ^{ccm}, mit $^1/_{10}$ Oese abgeschwächter Cultur (Vaccin II) im Reagenzglase zusammengebracht und diese Mischungen nun möglichst bald nach ihrer Herstellung den Thieren subcutan injicirt wurden. Die Probeinfection mit vollvirulentem Milzbrande wurde dann, wie die folgende Tabelle (X) zeigt, kürzere oder längere Zeit nach dieser Vorbehandlung ausgeführt.

Es stellte sich dabei zunächst heraus, dass die vorbereitenden Impfungen mit Serum-Culturmischungen von allen Thieren gut, ohne ernstere Störungen überwunden wurden, indem nur einige wenige mit vorübergehender Temperatursteigerung, andere überhaupt nicht reagirten. Gleichzeitig aber wurde mit dieser Behandlung ein sehr bemerkenswerther Grad von Immunität geschaffen, der es bewirkte, dass bis auf einen einzigen, sogleich noch näher zu betrachtenden, letal verlaufenen Fall sämmtliche Schafe noch nach 3, 4 und 6 Wochen einer für das Controlthier innerhalb der gewöhnlichen Zeit und unter den typischen Erscheinungen tödtlichen Milzbrandinfection erfolgreich widerstanden. Soweit man geneigt ist, dieser relativ kleinen Beobachtungsreihe Beweiskraft zuzuerkennen, kann es daher kaum einem Zweifel unterliegen, dass das Verfahren der combinirten activen und passiven Immunisirung in der versuchten Form unschädlich und hinsichtlich seiner Dauer der einfachen Serumimmunität offenbar weit überlegen ist, damit aber auch einen den Anforderungen der Praxis besser entsprechenden Impfschutz zu gewähren vermag. Die Feststellung, dass die Thiere sich noch viele Wochen nach der Schutzimpfung in der That als immun er-



Tabelle X.

Immunisirungsversuch bei Schafen durch Vorbehandlung mit Serum- und Culturmischungen.

(Combinirte active und passive Immunisirung.)

Nummer	Gewicht in kg	Vorbehandlung	Verhalten der Körpertemperatur (Morgens und Abends) im Verlauf der ersten Woche nach der Vorbehandlung, Tag 1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	Infection	Verhalten der Körpertemperatur (Morgens und Abends) im Verlauf der ersten Woche nach der Infection, Tag 1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	Bemerkungen
X.	47·5	Mischung von 10 ccm Milzbrandserum (Hammelserum I und II) und $^1/_{10}$ Oese abgeschwächter Cultur (Vaccin II, Pasteur) subcutan injicirt. (X.–XVI.)	39·1	39·3	39·3	39·1	39·3	39·2	39·2	6 Wochen später; Impfung mit $^1/_{10}$ Oese virulenter Milzbrandcultur und $^1/_2$ Tropfen frischen Milzbrandblutes (Meerschw.). (X.–XVII.)	40·6	41·6	40·2	40·7	40·1	40·4	39·3	Bleibt leben.
			39·2	39·3	39·2	39·3	39·2	39·2	39·1		40·1	40·5	40·5	40·7	40·1	39·8	39·2	
XI.	45·5		39·0	39·3	39·1	39·0	39·2	39·3	39·1	desgl.	40·8	41·0	40·8	40·3	40·7	39·9	39·6	desgl.
			39·1	39·2	39·3	39·1	39·1	39·1	39·2		40·9	40·6	40·2	40·1	40·0	39·8	39·3	
XII.	48·0		39·0	39·2	39·0	39·5	38·9	39·1	39·1	4 Wochen später	40·5	40·4	40·8	40·1	40·6	40·0	39·7	desgl.
			39·2	39·2	39·4	39·0	39·0	38·9	39·2		40·3	40·0	40·5	40·0	40·3	39·8	39·3	
XIII.	43·5		39·0	39·0	39·1	39·4	38·9	39·1	38·9	3 Wochen später	39·8	40·5	—	—	—	—	—	† in der Nacht v. 2. zum 3. Tage n. d. Infection (60—68 Stunden).
			39·1	39·1	39·3	39·1	39·2	39·1	39·1		40·1	40·2	—	—	—	—	—	
XIV.	50·0		39·4	40·8	40·0	40·1	40·0	39·5	39·4	desgl.	39·6	40·8	40·5	39·7	39·6	40·2	39·4	Bleibt leben.
			41·0	40·2	40·4	39·9	39·4	39·4	39·2		39·9	40·7	40·1	39·6	39·7	39·7	39·5	
XV.	39·0		39·2	39·3	38·9	38·8	39·1	38·8	39·1	14 Tage später	39·7	40·7	39·9	39·4	39·4	40·2	39·1	desgl.
			39·3	39·0	39·1	39·0	39·0	39·1	39·2		39·8	40·0	39·8	39·5	39·9	39·9	39·3	
XVI.	43·0		39·4	39·2	39·4	39·3	39·3	39·2	39·0	desgl.	39·3	41·1	40·0	39·7	39·7	39·4	39·3	desgl.
			39·6	39·3	39·7	39·4	39·1	39·2	39·3		39·6	40·3	39·7	39·4	39·3	39·5	39·1	
XVII.	46·0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	39·8	—	—	—	—	—	—	† 30—36 Stunden nach der Infection.
											39·9	—	—	—	—	—	—	

Sectionsbefund von Hammel XIII.

Hammel zeigt das typische Sectionsbild des Milzbrandes. Vor Allem die gewöhnlichen Erscheinungen, wie Ausflüsse von Blut aus Maulhöhle und Nase und After u. s. w.

Milz ungefähr um das Vierfache vergrössert. Pulpa fast verflüssigt, von Trabekeln und Follikeln nichts erkennbar.

Leber unverändert.

Am Labmagen zeigt sich starke venöse Blutfülle, ebenso am Gekröse des Dünndarmes. Bedeutende Blutungsflecken.

Die Darmwand des Zwölffingerdarmes hat ein so blauschwarzes Aussehen, als ob Incarceration bestanden hätte. Der Inhalt einer Partie des Dünndarmes und des Zwölffingerdarmes besteht nur aus reinem theerartigen Blute. Die Lymphknotenpackete ragen als schwarzrothe Herde von Fingerlänge hervor.

Am Dickdarme finden sich solche Veränderungen nur beschränkt, am Mastdarme fehlen sie völlig.

Nieren befinden sich beide im Zustande einer bedeutenden hämorrhagischen Nephritis.

In Herzblut und Milzsaft zahlreiche Milzbrandbacillen, mikroskopisch nachweisbar.

Sectionsbefund von Hammel XVII.

Leiche sehr stark aufgetrieben. Todtenstarre fehlt. An Nase und After sind leichte blutige Ergüsse zu sehen.

Sichtbare Schleimhäute stark blauschwarz verfärbt. Subcutis an vielen Stellen blutig infiltrirt.

In den serösen Körperhöhlen blutig-seröse Flüssigkeit in mässiger Menge.

Pleura costalis und pulmonalis mit Suffocationsblutungen dicht besäet.

Sämmtliche Lymphdrüsen sind vergrössert, mit theerartigem Blute prall gefüllt und von Blutungen durchsetzt.

Milz im Zustande acuter hyperämischer Schwellung. Pulpa zerfliesslich weich, tief schwarzroth.

Herz zeigt in der Musculatur blutige Infarcte, Endocard ecchymosirt. Das Blut des Herzens schlecht geronnen, färbt stark ab.

Darmerscheinungen nicht vorhanden.

Leber hämorrhagisch infarcirt.

Nieren im Zustande hämorrhagischer Nephritis, in ihrer Umgebung finden sich umfangreiche gelatinöse Durchtränkungen.

Bakteriologischer Befund: Zahlreiche Milzbrandbacillen im Blute.



wiesen, bedeutet ohne Frage einen Erfolg, wie er kaum günstiger zu erwarten gewesen, und es würde das Resultat vollkommen eindeutig sein und jede weitere Erörterung erübrigen, wenn nicht eben doch eines der vorbehandelten Thiere der späteren Infection zum Opfer gefallen wäre. Es ist freilich ein zweites, genau in der gleichen Weise vorbehandeltes und auch zur gleichen Zeit inficirtes Thier (Nr. XIV) mit dem Leben davon gekommen, andere haben sogar noch nach erheblich längerer Dauer über starke Infectionsfestigkeit verfügt, endlich ist auch das Thier selbst erst später als das Controlthier eingegangen, immerhin aber dürfte jenes Ereigniss wohl darauf hinweisen, dass der durch das combinirte Immunisirungsverfahren zu erzielende Impfschutz durch individuelle Verschiedenheiten der Versuchsthiere in bedeutsamer Weise beeinflusst werden kann und nicht einen absolut zuverlässigen Erfolg zu verbürgen vermag. Diese vollkommene Sicherheit muss aber in erster Linie angestrebt werden, und es wird auch, wie ich glauben möchte, sehr wohl möglich sein, auf dem versuchten Wege noch zuverlässigere Resultate zu erreichen. Gewisse, scheinbar unwesentliche Modificationen in der Art der Vorbehandlung könnten in dieser Hinsicht von Bedeutung sein, und es sei, ohne aus der Analogie mit anderen Infectionen nun etwa bestimmte Schlussfolgerungen ableiten zu wollen, an die von Kolle[1] bei der Rinderpest gemachten Erfahrungen erinnert, wonach die gleichzeitige, aber getrennte Einspritzung von Immunserum und Virus einen kräftigeren Impfschutz zu gewähren pflegt, als die Injection vorbereiteter Mischungen.

Noch einen weiteren Umstand möchte ich nicht mit Stillschweigen übergehen. Der „Sectionsbefund" des trotz Vorbehandlung der späteren Infection erlegenen Hammels (Nr. XIII) enthält eine bemerkenswerthe Angabe, welche es nicht ganz unwahrscheinlich macht, dass neben der naheliegenden und sicher zutreffenden Annahme einer nicht ausreichenden Immunisirung noch andere, zufällige Ereignisse eine Rolle gespielt, den Tod des Thieres veranlasst und damit den natürlichen Verlauf der Dinge in störender Weise beeinflusst haben. Es ist dies die Feststellung von Darmveränderungen. Da kein einziges der im Verlaufe meiner Untersuchungen an Impfmilzbrand eingegangenen Thiere, im Besonderen Schafe, jemals Erscheinungen dieser Art hatte erkennen lassen, wie sie allgemein nur als der Ausdruck einer auf dem Wege der Fütterung spontan erfolgenden oder experimentell erzeugten Milzbrandinfection angesprochen werden, so war dieser Befund in höchstem Maasse auffallend und die Vermuthung kaum von der Hand zu weisen, dass auch in dem vorliegenden

[1] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1898. Nr. 25. — Vgl. auch Kolle u. Turner. *diese Zeitschrift.* Bd. XXIX.



Falle, allerdings aus unfreiwilliger und unbekannter Veranlassung, Milzbrandkeime, und zwar in der Sporenform, directen Eingang in den Intestinaltractus gefunden hatten. Das Thier würde dann einer gleichzeitigen Impf- und Darminfection zum Opfer gefallen sein.

Damit habe ich aber eine Frage berührt, auf welche ich trotz ihrer grossen theoretischen wie praktischen Bedeutung bei den bisherigen Erörterungen noch nicht eingegangen war, nämlich, ob die gegenüber der subcutanen Impfung zu schaffende Immunität die Thiere in gleicher Weise auch gegen eine Infection vom Magen-Darmcanal aus zu erhöhtem Widerstande befähigt.

Immunisirungsversuche bei Fütterungsmilzbrand.

Die Thatsache, dass der Zustand erworbener Immunität, activer wie passiver, sich meist nur nach ganz bestimmter Richtung und gegenüber einem wohl charakterisirten Infectionsmodus zu äussern vermag, hat durch die Beobachtungen der letzten Jahre wiederholt vollste Bestätigung gefunden. Wir wissen, dass Thiere, welche durch langdauernde Vorbehandlung einen sehr hochgradigen Impfschutz erlangt haben, damit für die betreffende Infection nun etwa keineswegs unter allen Umständen unempfänglich geworden sind, vielmehr — wenn wir zunächst von quantitativen Verhältnissen absehen wollen — bei veränderter Einverleibung des Krankheitsstoffes durch relativ geringe Virusmengen, ebenso wie normale Thiere, getödtet werden können. Es bedarf zur Erläuterung dieser Dinge vielleicht nur des Hinweises auf die neuerdings durch Roux und Borrel[1] mitgetheilte und auch von anderer Seite bestätigte, bemerkenswerthe Beobachtung, dass tetanusimmune Kaninchen zwar gegen die subcutane Infection mit virulentem Materiale sicher geschützt zu sein pflegen, dennoch aber bei directer intracerebraler Verimpfung des Infectionsstoffes leicht am Tetanus zu Grunde gehen. Derartige Erfahrungen, welche den künstlichen Impfschutz als einen „regionären“ charakterisiren, sind in ähnlicher Weise für eine Reihe der verschiedensten Infectionen bereits seit längerer Zeit festgestellt und haben namentlich zu der Erkenntniss geführt, dass die Immunisirung gegenüber einer intravenösen oder stomachalen Infection in der Regel recht erhebliche, fast unüberwindliche Schwierigkeiten in den Weg zu legen scheint. Gerade in letzterer Hinsicht sei z. B. an die bezüglich der Choleraimmunität der Meerschweinchen beobachtete Thatsache erinnert, wie wenig selbst eine ungewöhnlich starke active Immunität gegen eine Darminfection auszurichten

[1] *Annales de l'Institut Pasteur.* 1898. T. XII.



vermag, ein Mangel, der hiernach ganz besonders in's Gewicht fallen musste, insofern, als unter den natürlichen Verhältnissen der Spontanerkrankung der Krankheitsstoff stets vom Magen-Darmcanale aus Eingang in den menschlichen Organismus findet und daher, wenigstens nach den Erfahrungen des Thierexperimentes, einer specifischen Prophylaxe oder gar Therapie nicht eben günstige Bedingungen in Aussicht stellte.

Auch der Milzbrand zählt zu denjenigen Affectionen, welche vom Verdauungstractus aus den Körper zu befallen pflegen. Zwar kann sehr wohl einmal die Aufnahme des Infectionsstoffes von der äusseren Haut, also auf dem Wege directer Impfung erfolgen, wie dies beim Menschen sogar die häufigere Art der Erkrankung ist, doch dürfen wir es nach den grundlegenden Koch'schen Untersuchungen wohl als eine über jeden Zweifel sicher gestellte Thatsache hinnehmen, dass der Milzbrand der Thiere in der weit überwiegenden Mehrzahl der Fälle, man kann fast sagen regelmässig, vom Darme aus acquirirt und durch die Infection des Futters mit Milzbrandsporen veranlasst wird. Nur so wenigstens lassen sich die epidemiologischen Erscheinungen mit den biologischen und pathogenen Besonderheiten des Infectionserregers in Einklang bringen und in vollbefriedigender Weise erklären. Man hat daher schon seit Langem auch dieser Art des Infectionsmodus lebhafte Aufmerksamkeit geschenkt und besonders die Frage aufgeworfen, ob und in welcher Weise die für die Bekämpfung des Impfmilzbrandes offenbar recht wohl geeigneten Pasteur'schen Schutzimpfungen auch die, den Verhältnissen der Spontanerkrankung mehr entsprechende Darminfection zu beeinflussen im Stande seien.

Die Antwort hierauf ist theils durch empirische Feststellungen, theils durch exacte Laboratoriumsversuche gegeben worden, aber in scheinbar widersprechendem Sinne. Während die seit vielen Jahren in grösstem Maassstabe und in den verschiedensten Ländern, meist nach dem Pasteur'schen Verfahren, zur Durchführung gelangten Schutzimpfungen ohne Frage von nicht geringem Erfolge gewesen sind und zum Theil in recht bemerkenswerther Weise die Seuche zum Stillstande und Rückgange gebracht haben, konnte man auf experimentellem Wege diese günstigen Ergebnisse nicht ohne Weiteres bestätigen und etwa für die Möglichkeit einer sicheren Immunisirung empfänglicher Thiere gegen Fütterungsmilzbrand einen einwandfreien Beweis erbringen. Die Versuche, welche namentlich von Koch, Gaffky und Löffler[1] nach dieser Richtung angestellt worden sind, hatten gezeigt, dass Schafe, welche durch Behandlung mit den beiden Pasteur'schen Vaccins gegen Impfmilzbrand geschützt worden waren und thatsächlich auch bereits eine oder mehrere Probeinfectionen mit virulenten

[1] *Mittheilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1884. Bd. II.



Culturen ohne Schaden ertragen hatten, trotzdem einer späteren Sporenfütterung keinen wesentlich grösseren Widerstand entgegensetzten als die unbehandelten Controlthiere. Da von 10 immunisirten Schafen, welche eine Zeit lang täglich mit geringen Sporenmengen gefüttert wurden, 2 nach relativ kurzer Dauer an typischem Darmmilzbrande zu Grunde gingen, andererseits aber auch unter 10 nicht vorbehandelten Thieren bei ähnlicher Infectionsweise nur 5 der Fütterung erlagen, so gelangten die genannten Autoren zu dem Schlusse, dass der Impfschutz, wie ihn das Pasteur'sche Verfahren verleiht, gegenüber der Darminfection eine recht unvollkommene Wirkung äussere und daher schon aus diesem Grunde für die Praxis keinen entscheidenden Fortschritt bedeute.

Wir müssen hierbei freilich nicht vergessen, wie ausserordentlich schwierig es einmal ist, im Laboratoriumsversuche die Verhältnisse der natürlichen Infection nachzuahmen und auch nur annähernd wiederzugeben, dann aber, und namentlich, dass die Untersuchungen Koch's und seiner Mitarbeiter in eine Zeit zurückreichen, in der man die gesetzmässigen quantitativen Beziehungen zwischen Impfschutz und Infectionskraft noch nicht in genügendem Maasse zu berücksichtigen wusste und einen Zustand, wie ihn Thiere nach dem Ueberstehen der Pasteur'schen Schutzimpfung und einer Probeinfection mit virulenter Cultur erworben hatten, als „das Maximum der durch Schutzimpfung erreichbaren Immunität“ bezeichnen durfte. Es war daher trotz jener unzuverlässigen und wenig befriedigenden Ergebnisse nach unseren jetzigen Anschauungen immer noch sehr wohl denkbar, dass ein höherer Grad activer oder passiver Immunität Besseres leisten und dem Organismus auch gegenüber der Darminfection von Vortheil sein könnte.

Diese wichtige Frage einer erneuten Prüfung zu unterziehen, bot sich mir in reichem Maasse Gelegenheit, da ich unter meinen Thieren eine grössere Zahl zur Verfügung hatte, welche allmählich eine ungewöhnlich hohe, zum Theil fast unbegrenzte Widerstandsfähigkeit gegen subcutane Milzbrandimpfungen erworben hatten.

Die ersten derartigen Versuche wurden an Kaninchen ausgeführt. Schon an anderer Stelle[1] konnte ich berichten, dass 4, zu starker activer Immunität gebrachte Kaninchen trotz wiederholter, sehr reichlicher Fütterung mit Milzbrandsporen am Leben geblieben waren und damit offenbar einen sicheren Impfschutz gegen die Darminfection zu erkennen gegeben hatten. Ich bin nun in der Folge noch bei weiteren 6 Thieren auf gleiche Weise vorgegangen und dabei zu völlig übereinstimmenden Resultaten gelangt. Die Thiere waren zunächst soweit activ immunisirt

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXV. S. 354. 355.



worden, dass sie die Verimpfung von 3 bis 4 Oesen virulentester Cultur unter Rücken- oder Bauchhaut so gut wie reactionslos vertrugen, und erhielten nun, etwa 3 Wochen nach der letzten Injection, gleichzeitig mit 4 unbehandelten Kaninchen reiche Mengen von Milzbrandsporen dem Futter, Mohrrüben und Hafer, beigemischt. Die Controlthiere gingen sämmtlich nach 3 bis 4 Tagen ein, eines erst am 5. Tage, während die immunisirten überlebten. Nach einiger Zeit wurde der Versuch mit diesen letzteren nochmals wiederholt, nur mit dem Unterschiede, dass in diesem Falle das Sporenmaterial nicht mit dem Futter verabfolgt, sondern nach Aufschwemmung in Milch vermittelst geeigneter Glasröhrchen direct in den Schlund eingebracht wurde. Wiederum war der Erfolg der gleiche. Die Infection vermochte keinem der Thiere etwas anzuhaben und nur 4 neue Kaninchen, welche zur Controle nach dem gleichen Modus gefüttert worden waren, gingen innerhalb der gewöhnlichen Zeit mit Darmerscheinungen zu Grunde.

Nach diesem günstigen Verlaufe war man wohl dazu berechtigt, von Fütterungsversuchen bei Schafen nicht minder gute Resultate zu erwarten, eine Vermuthung, die in der That, wie die folgende Tabelle (XI) zeigt, in vollem Umfange bestätigt wurde.

Keines der immunisirten Thiere ist der Fütterung zum Opfer gefallen, obwohl die Menge der eingeführten Sporen (mindestens 6 Oesen) entschieden als eine sehr erhebliche, bei einzelnen Schafen, welche den Culturrasen von 5 und 10 Agarröhrchen, bezw. Kartoffelscheiben erhalten hatten, sogar als eine ganz enorme bezeichnet werden musste. Ich möchte hinzufügen, dass mehrere dieser Thiere (Nr. I, II, VII, XVI) auch bei späterer Gelegenheit einem zweiten Fütterungsversuche mit virulentem Sporenmateriale ebenso erfolgreich widerstanden hatten. Von ganz besonderem Interesse aber scheint mir die Thatsache zu sein, dass diejenigen 3 Schafe, welche überhaupt nicht activ immunisirt gewesen, sondern erst 24 Stunden vor dem Versuche mit 50, bezw. 100 und 150 ccm Milzbrandserum geimpft worden waren, gleichfalls am Leben geblieben sind, und damit der Beweis für die Möglichkeit einer passiven Immunisirung auch gegen Fütterungsmilzbrand erbracht haben dürften.

Es wird an diesen Ergebnissen, wie ich glaube, durch den Umstand wenig geändert, dass von den 3 mit Sporen gefütterten Controlthieren nur 2 der Infection prompt erlegen sind, das dritte aber mit dem Leben davon kam. Da die von mir benutzte Milzbrandcultur über eine ausserordentlich hohe Pathogenität verfügte und sich auch namentlich zur Zeit jenes Fütterungsversuches bei subcutaner Verimpfung für Schafe als vollvirulent erwiesen hatte, so bleibt lediglich die Erklärung, dass der ver-

Tabelle XI.

Immunisirungsversuch bei Schafen gegen Fütterungsmilzbrand.

Nummer	Vorbehandlung	Infection	Verhalten der Körpertemperatur (Morgens und Abends) im Verlauf der ersten Woche nach der Infection — Tag 1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	Bemerkungen
I	Active Immunisirung. Letzte Impfung: 5 Massenculturen	3 Wochen nach der letzten Impfung wird der fast nur aus freien Sporen bestehende Rasen von 5 Agar- u. 5 Kartoffelculturen (in Milch) per os eingeführt.	39·0	40·4	39·8	38·9	39·0	39·1	39·1	Bleibt leben.
			39·2	39·4	39·5	39·1	39·1	39·0	39·1	
II	desgl.		39·5	39·2	39·5	39·6	39·5	39·3	39·1	„ „
			39·1	39·C	39·6	39·5	39·6	39·3	39·2	
IV	Active Immunisirung. Zuletzt 1½ Massencult.	3 Wochen nach der letzten Impfung 5 Agarculturen (Sporen) per os.	39·0	39·5	39·1	39·1	39·0	38·9	39·1	„ „
			39·4	39·4	39·0	39·0	39·1	39·2	39·0	
VI	desgl.		38·9	39·4	38·9	39·1	39·0	39·1	39·3	„ „
			39·7	39·5	39·6	38·9	39·1	39·0	39·1	
VII	Active Immunisirung. Zuletzt 1 Massencultur	3½ Wochen nach der letzten Impfung 6 Oesen (ca. 1 Agarcultur) freier Sporen per os.	38·9	39·8	39·5	39·5	39·2	39·0	39·1	„ „
			39·9	39·4	39·6	39·1	39·2	39·1	39·2	
XVI	Active Immunisirung. Zuletzt ½ Massencult.		39·3	39·2	39·6	39·7	39·0	39·0	39·2	„ „
			39·0	39·2	39·8	39·3	39·4	39·0	39·1	

Tabelle XI. (Fortsetzung.)

Nummer	Vorbehandlung		Infection	Verhalten der Körpertemperatur (Morgens und Abends) im Verlauf der ersten Woche nach der Infection — Tag 1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	Bemerkungen
XVIII	50 ccm	Milzbrandserum (Hammelserum I u. II)	24 Stunden später eine ganze (3tägige) Agarcultur, nur aus freien Sporen bestehend, per os	39·5	39·1	39·0	39·0	39·0	40·1	39·8	Bleibt leben.
				39·5	39·4	38·9	39·1	39·0	39·9	39·6	
XIX	100 „			38·8	38·9	38·8	39·8	39·8	39·7	39·5	„ „
				38·9	39·2	39·3	39·7	39·9	39·5	39·3	
XX	150 „			39·3	38·9	39·0	38·9	39·0	39·9	39·2	„ „
				39·5	38·8	38·9	39·1	39·6	39·0	39·1	
XXI	—		Eine ganze Agarcultur (ca. 6 Oesen) per os. (Nur freie Sporen.)	38·8	39·1	39·0	39·0	39·4	39·7	39·7	„ „
				39·6	39·2	39·1	39·1	39·3	39·4	39·4	
XXII	—			39·6	40·9	—	—	—	—	—	† in der Nacht vom 2. z. 3. Tage n. d. Impfung (58—66 Stunden).
				40·3	41·5	—	—	—	—	—	
XXIII	—			40·0	39·2	—	—	—	—	—	† in der Nacht vom 2. z. 3. Tage n. d. Infection (58—66 Stunden).
				39·5	39·8	—	—	—	—	—	

Sectionsbefund von Hammel XXII.

Leiche mässig aufgetrieben, Todtenstarre fehlt, leicht blutig gefärbte Ausflüsse aus Nasenhöhle und After.

Im Unterhautzellgewebe Blutlachen von verschiedener Form u, Grösse.

Seröse Körperhöhlen gefüllt mit blutig-seröser Flüssigkeit in mässigem Umfange.

Die Pleura pulmonalis ist so dicht mit Suffocationsblutungen besetzt, wie noch in keinem der früher zur Section gekommenen Fälle. Lungen auf dem Schnitte blauroth.

Am Kehlkopfe und Schlundkopfe umfangreiche gelatinöse Durchtränkungen und Infarcte.

Sämmtliche der Besichtigung unterzogene Drüsenpackete sind stark vergrössert, mit theerartigem Blute gefüllt.

Milz acut hyperämisch geschwollen; ihre Pulpa zerfliesslich, tief schwarzroth. Trabekel und Follikel nicht mehr sichtbar.

Die Oberfläche des Herzens zeigt fleckige Blutungen. Das Endocardium ist blutig imbibirt.

An der Serosa und dem Gekröse besteht venöse Blutüberfüllung; dasselbe ist verwaschen braunroth verfärbt. Ferner sind Blutungen sichtbar.

Der Chymus ist wenig blutgemischt und deshalb röthlich-grau.

Die Dünndarmschleimhaut ist roth, geschwellt und blutig infiltrirt. Die Drüsenpackete treten in schwarzrothen fingerlangen Zügen scharf hervor (carbunculös verändert).

Der Dickdarm ist an manchen Stellen stark hyperämisch und infiltrirt.

Viele Schleimhautfalten des Labmagens sind geschwollen und blauroth gefärbt, einzelne zeigen bedeutende Erosionen.

Die Leber ist vergrössert, in ihrer Consistenz stark brüchig.

Nieren im Zustande hämorrhagischer Nephritis.

Bakteriologischer Befund: Im Blute zahlreiche Milzbrandbacillen.

Sectionsbefund von Hammel XXIII.

Die Venen des Unterhautbindegewebes prall mit theerfarbenem Blute gefüllt, die natürlichen Körperöffnungen blauschwarz verfärbt. Aus der Maul- und den Nasenhöhlen hat sich eine etwas ziegelmehlfarbene Flüssigkeit ergossen. Todtenstarre fehlt. Auftreibung nur mässig stark vorhanden.

Fast alle Lymphdrüsengruppen vergrössert, mit theerfarbenem Blute überfüllt und von Blutungen durchsetzt. Die Milz ungefähr um das Vierfache vergrössert, die Pulpa fast verflüssigt, Follikel und Trabekel kaum eben noch erkenbar. Das Herz zeigt auf seiner Oberfläche fleckige Blutungen, das Endocardium ist blutig imbibirt. Das Blut des Herzens und der grossen zuführenden Gefässe pechschwarz gefärbt.

An dem Gekröse des Dünndarmes zeigt sich starke venöse Blutüberfüllung und verwaschene braunrothe Verfärbung. Der Chymus ist blutgemischt, rothgrau gefärbt.

Die Dünndarmschleimhaut roth, geschwollen, blutig infiltrirt und mit Erosionen besetzt.

In der Leber und den Nieren sind besonders auffallende Veränderungen nicht wahrnehmbar.

Bakteriologischer Befund: Im Blute zahlreiche Milzbrandbacillen.



änderte Infectionsmodus die Sicherheit der tödtlichen Wirkung herabgesetzt hatte und für das Ueberleben des einen Controlthieres verantwortlich zu machen war. Auf die gleiche Ursache aber etwa auch die Unempfänglichkeit der immunisirten Schafe zurückführen zu wollen, hiesse den Thatsachen Gewalt anthun, denn, möge selbst unter gewöhnlichen Verhältnissen eine Infection vom Darmcanale aus ungleich schwieriger erfolgen als vom Unterhautzellgewebe, so wird das einwandfreie Ergebniss, dass alle activ oder passiv immunisirten 9 Thiere die Fütterung mit einem sehr beträchtlichen und virulenten Sporenmateriale anstandslos überwunden haben, nicht einfach als ein Spiel des Zufalles angesehen werden können, vielmehr über den Einfluss der specifischen Vorbehandlung auf diesen Verlauf kaum einen Zweifel aufkommen lassen.

Um endlich noch auf die Frage der praktischen Nutzanwendung der zuletzt mitgetheilten Versuche mit wenigen Worten einzugehen, so sind die sowohl für die active, wie für die passive Immunisirung benutzten Cultur-, bezw. Serumdosen zwar recht erhebliche gewesen, andererseits aber auch Sporenmassen den Thieren einverleibt worden, wie sie unter natürlichen Verhältnissen, wenn überhaupt, wohl nur in seltensten Fällen zur Aufnahme gelangen dürften. Bei der Spontanerkrankung empfänglicher Thierarten handelt es sich eben sicherlich immer nur um eine Infection mit relativ geringfügigen Mengen des Infectionsstoffes, d. h. einiger weniger Sporen, und wir werden es sehr wohl zu begreifen wissen, dass für die Bekämpfung einer leichteren Infection auch schon eine Immunität geringeren Grades ausreichende Sicherheit zu gewähren vermag. So wäre es nicht ausgeschlossen, dass, ebenso wie die active Immunisirung nach dem Pasteur'schen Verfahren, auch die Behandlung mit Milzbrandserum in der Form der einfachen passiven oder der combinirten Immunisirung praktisch brauchbare Resultate ergäbe. Inwieweit dies der Fall und ob namentlich die letztere Methode im Stande ist, auch gegen den Fütterungsmilzbrand einen länger dauernden Impfschutz zu verleihen, wird durch weitere Untersuchungen zu ermitteln sein.



[Aus dem Institut für Infectionskrankheiten zu Berlin.]

Ueber einen Befund von Typhusbacillen im Brunnenwasser.

Von

Stabsarzt Dr. **Kübler** und Dr. **F. Neufeld.**

Im Juni v. J. hatten wir Gelegenheit, uns an der bakteriologischen Untersuchung von drei Wasserproben zu beteiligen, welche Hrn. Dr. O. Voges als typhusverdächtig von privater Seite zugegangen waren. Sie stammten von drei verschiedenen Stellen eines sehr stark mit Typhus durchseuchten Gehöftes, welches zu einem Dorfe der Neumark gehört, jedoch isolirt gelegen ist. Diejenige Wasserprobe, aus welcher uns die Züchtung der Typhusbacillen gelang, war als „Hofbrunnen" signirt. Im Folgenden soll zunächst kurz der Gang der bakteriologischen Untersuchung angegeben werden, sodann das, was uns über die Entwickelung des kleinen Seucheherdes bekannt geworden ist.

Aus dem „Hofbrunnen"-Wasser wurden, ebenso wie aus den beiden anderen Wasserproben, welche ein negatives Resultat ergaben, eine Anzahl von Platten mit Elsner'scher Gelatine gegossen, und hiervon nach 48 Stunden eine Reihe verdächtiger Colonieen auf Agarröhrchen überimpft.

In einem dieser Agarröhrchen nun entwickelte sich eine Reincultur eines beweglichen Stäbchens, welches alle Kennzeichen des Typhusbacillus aufwies. Dasselbe wurde im Vergleich mit einer echten Typhus-, einer Coli- und einer Alcaligenes-Cultur allen gebräuchlichen Proben unterworfen; es zeigte sich im Wachsthum auf Gelatine, Kartoffel, Petruschky'scher Lackmusmolke, gewöhnlicher Bouillon (ohne Indolbildung), Traubenzuckerbouillon, sowie nach der Anzahl der Geisseln identisch mit der Typhuscultur. Es wurde ferner in der gleichen Weise wie eine Typhuscultur durch stark verdünntes Typhusziegenserum, nicht jedoch durch andere Sera agglutinirt.



Als entscheidend sehen wir den positiven Ausfall des Pfeiffer'schen Versuches an, welcher, mit hochwertigem Typhusimmunserum angestellt, das folgende Resultat ergab.

14. VI. 1898. Meerschweinchen von 300 grm, intraperitoneal inficirt mit 24stündiger Agarcultur der Cultur „Hofbrunnen."

1. 1 ganze Oese . . . . † 15. VI.
2. $^1/_2$ Oese . . . . † 15. VI.
3. $^1/_5$ Oese . . . . † 15. VI.
4. $^1/_{10}$ Oese . . . . bleibt leben
5. 1 ganze Oese + 0·01 Immunserum bleibt leben.

Dieser Versuch wurde mit demselben Resultate mehrfach wiederholt, auch unter Anwendung von Controlserum; während letzteres sich in der zwanzigfachen Dosis (0.2) unwirksam zeigte, liessen sich bei Anwendung des specifischen Immunserums die von Pfeiffer beschriebenen Auflösungsvorgänge im Peritoneum in typischer Weise verfolgen.

Etwa 4 Wochen später wurde eine zweite Probe aus demselben Brunnen entnommen. Aus derselben wurden zwei Culturen gewonnen, welche in ihrem Aussehen, ihrer Beweglichkeit, ihrem Verhalten den chemischen Proben gegenüber mit echten Typhusbacillen übereinstimmten; auch wurden sie durch Typhusserum agglutinirt. Im Thierversuch dagegen erwiesen sie sich als nicht pathogen, indem 1 ganze Öse für Meerschweinchen unschädlich war. Es ist wahrscheinlich, dass es sich hierbei um in ihrer Virulenz beeinträchtigte Typhusbacillen gehandelt hat. Als sicher möchten wir das jedoch keineswegs hinstellen, vielmehr erscheint uns nach dem heutigen Stande der Forschung bei typhusähnlichen Bakterien, die aus dem Wasser gezüchtet sind, ein positiver Ausfall der Pfeiffer'schen Immunitätsreaction als eine unerlässliche Forderung.

Wenn man in diesem Sinne die Anwendung des Pfeiffer'schen Versuches, sowie natürlich auch aller übrigen Typhusproben, insbesondere der mit Lackmusmolke als nothwendig ansieht, so dürfte es im vorliegenden Falle wohl zum ersten Male gelungen sein, in einwandfreier Weise das Vorhandensein von Typhuskeimen in einem Trinkwasser nachzuweisen, durch welches den klinischen Thatsachen nach eine Typhusübertragung angenommen werden musste; unser Befund stellt sich damit den bekannten von Lösener[1] zur Seite.

Wir müssen uns natürlich fragen, welchem Umstande wir das positive Resultat verdanken. Denn nach derselben Methode ist typhusverdächtiges Wasser vielfach untersucht worden; unter anderem wurden z. B. im Jahre

[1] *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* Bd. XI.

vorher im Institut eine Anzahl verdächtiger Wasserproben aus der von Pfeiffer beschriebenen Zehdeniker Epidemie[1] in derselben Weise und mit sehr viel grösserem Aufwande von Arbeitskraft mit durchaus negativem Resultate untersucht.

Die Hauptursache der Misserfolge ist man — neben dem Mangel einer „Anreicherungsmethode," wie wir sie für Cholera besitzen, — darin zu sehen gewohnt, dass bei der langen Incubationszeit des Typhus die Untersuchung meist zu spät erfolgt; wenn bei einem oder mehreren Fällen die Diagnose gestellt und man auf das schuldige Wasser aufmerksam geworden ist, werden die Typhusbacillen meist daraus schon verschwunden sein.

Dass jedoch auch in unserem Falle die Untersuchung des Wassers verhältnissmässig spät, nämlich mindestens 4 Wochen nach den muthmasslichen Infectionen desselben stattgefunden hat, geht aus dem Verlaufe der ganzen Epidemie hervor; da sich dieselbe auf recht beschränktem Raume, nämlich einem isolirt liegenden Gehöft abspielte und im Ganzen nur 13 Personen betraf, so konnte die Aetiologie der einzelnen Fälle verhältnissmässig leicht sichergestellt werden. Einem uns freundlichst überlassenen Bericht des Hrn. Dr. Voges, welcher im Auftrage des Kgl. Preussischen Ministeriums der geistlichen, Unterrichts- und Medicinal-Angelegenheiten die Verhältnisse an Ort und Stelle untersucht hat, entnehmen wir die folgenden auf den „Hofbrunnen" bezüglichen Thatsachen.

Zuerst erkrankte auf dem Gehöft am 14. III. 1898 der Knecht Hans K., welcher von seinem Bruder, Paul K., gepflegt wurde. Dieser besorgte die Reinigung des Nachtgeschirres des Kranken auf dem Hofe, in der Nähe des 10 bis 12 Fuss tiefen Hofbrunnens. In der zweiten Hälfte des März begann nun das Grundwasser so stark zu steigen, dass es bis nahe unter die Erdoberfläche trat; der dicht neben dem Brunnen liegende Keller lief voll Wasser und die Erdschicht zwischen ihm und dem Brunnenrande wurde ganz aufgeweicht. Es ist begreiflich, wie leicht gerade unter diesen Umständen beim Reinigen des Gefässes etwas von dem Inhalte desselben in den Brunnen gelangen konnte. Dieses muss jedoch vor dem 4. Mai geschehen sein; denn an diesem Tage erkrankte Paul K. selbst und es fand seitdem keine Reinigung der Gefässe auf dem Hofe mehr statt, sondern die Abgänge der Kranken wurden mit Kalkmilch desinficirt. Gleichzeitig wurde aber auch Seitens des Besitzers die Benutzung des Brunnenwassers strengstens untersagt und den auf dem Hofe beschäftigten Arbeitern gekochtes Wasser verabfolgt. Die Entnahme des Wassers zur bakteriologischen Untersuchung erfolgte am 30. Mai, die Untersuchung desselben begannen wir erst am 6. Juni.

[1] *Klin. Jahrbuch.* 1898.



Dem rechtzeitigen Eingreifen des Besitzers des Gehöftes ist es offenbar zu danken, dass durch das Brunnenwasser anscheinend nur eine Infection erfolgt ist: ein fremder Arbeiter M., der sich auf dem Hofe nur vorübergehend aufhielt und mit keinem der Kranken in Berührung kam, trank aus dem Hofbrunnen, da er von dem Verbot und überhaupt von der Epidemie nichts wusste. Derselbe erkrankte am 11. Juni. Die übrigen Krankheitsfälle, welche auf dem Gehöft selbst wohnende Personen betrafen, liessen sich dagegen alle durch directe Uebertragung von einer Person auf die andere erklären, was bei den äusserst unhygienischen Wohnungsverhältnissen daselbst nicht auffallend ist.

Nach dem Gesagten müssen wir also annehmen, dass sich die Typhusbacillen in unserem Falle mindestens 4 Wochen im Wasser erhalten haben. Unser positives Ergebniss verdanken wir also nicht dem Glücksfalle, dass die Entnahme des Wassers ausnahmsweise kurz nach der Infection desselben erfolgt ist. Es liegt die Annahme am nächsten, dass in die nicht allzu grosse und ziemlich stagnirende Wassermenge des alsbald von der Benutzung ausgeschlossenen Brunnens eine verhältnissmässig grosse Menge von Typhuskeimen hineingelangt ist. Es ist nicht sehr wahrscheinlich, dass dieses durch Fäces geschehen ist; denn auch bei recht unsauberem Vorgehen dürften immerhin nur kleine Mengen davon, im Wasser gelöst, in den Brunnen gelangt sein. Solche kleinen Mengen enthalten aber, wie die Untersuchungen der faeces lehren, keine übergrosse Zahl von Typhusbacillen, wohl aber immer reichlich das viel resistentere Bacterium coli, welches bei unseren Untersuchungen in dem Brunnenwasser nicht gefunden wurde. Daher liegt es vielleicht näher, anzunehmen, dass die Verunreinigung des Brunnens durch Urin erfolgt ist. Wir wissen jetzt durch Untersuchungen von Petruschky,[1] dass in manchen Typhusfällen der Harn andauernd ganz enorme Mengen, bis zu Millionen von Typhusbacillen pro Cubikcentimeter, enthält. Wenn derartiger Urin in den Brunnen gelangt ist, so würde es sich ungezwungen erklären, dass auch nach einigen Wochen noch so reichlich Typhusbacillen darin enthalten waren, dass wir derselben in so kleinen Proben, wie sie bei dem Gelatineplattenverfahren zur Untersuchung kommen, habhaft werden konnten; es würde sich ferner erklären, dass wir nicht gleichzeitig Bacterium coli fanden und dass sich das Brunnenwasser überhaupt nicht als auffallend keimhaltig erwies.

[1] Ueber Massenausscheidung von Typhusbacillen durch den Urin u. s. w. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1898. Nr. 14.



[Aus dem Institut für Infectionskrankheiten und
dem Pathologischen Institut der Thierärztlichen Hochschule zu Berlin.]

Beitrag zur Frage der Infectiosität der Milch tuberculöser Kühe, sowie über den Nutzen der Tuberculinimpfung.

Von

Dr. **Lydia Rabinowitsch** und Dr. **Walter Kempner**,
Assistenten am Institut
für Infectionskrankheiten.

Zahlreiche bakteriologische Milchuntersuchungen haben in dem letzten Decennium den experimentellen Nachweis des Vorkommens von Tuberkelbacillen in der Marktmilch in mehr oder minder hoher Procentzahl erbracht. So wurden beispielsweise in der Berliner Marktmilch von Obermüller[1] in 61 Procent, von Petri[2] nur in 14 Procent Tuberkelbacillen durch das Thierexperiment nachgewiesen.

Die Untersuchungen, welche von dem einen von uns, L. Rabinowitsch, im Januar 1897 in Berlin ausgeführt wurden, ergaben, dass von 25 Proben der verschiedensten Herkunft 7 Proben = 28 Procent Tuberkelbacillen enthielten.

Die Milch wurde centrifugirt und Bodensatz und Rahmschicht gemischt, Meerschweinchen intraperitoneal injicirt. Wir verweisen im Uebrigen auf folgende Tabelle I.

---

[1] Ueber Tuberkelbacillenbefunde in der Marktmilch. *Hygienische Rundschau.* 1895. Nr. 19.

[2] Zum Nachweis der Tuberkelbacillen in Butter und Milch. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1898. Bd. XIV.



Tabelle I.

Untersuchung der Berliner Marktmilch, 1897.

Thier Nr.	Gewicht in grm	Milchproben	Menge in ccm	Tag der Injection	Gestorben	Gewicht in grm	Getödtet	Lebte	Bemerkungen
1	310	I	2	28. IV.	29. IV.			1 Tag	Peritonitis
2	300		0·5			320	10. VI.	6 Wochen	normal
3	260	II	2	28. IV.	29. IV.			1 Tag	Peritonitis
4	330		2			400	29. V.	4½ Wochen	normal
5	300	III	2	28. IV.	8. V.			10 Tage	Peritonitis
6	340		2		1. V.			3 "	"
7	260	IV	2	28. IV.	29. IV.			1 Tag	"
8	220		1·5						"
9	260	V	2	28. IV.		250	13. VI.	6½ Wochen	Tuberculose
10	220		2·5		1. V.			3 Tage	Peritonitis
11	230	VI	2	29. IV.		300	30. V.	4½ Wochen	normal
12	210		1			300	30. V.		"
13	270	VII	1·5	29. IV.	1. V.			2 Tage	Peritonitis
14	210		0·5			270	1. VI.	5 Wochen	normal
15	210	VIII	2	29. IV.	1. V.			2 Tage	Peritonitis
16	200		1·5			250	7. VI.	5½ Wochen	normal
17	210	IX	1·5	29. IV.		270	5. VII.	5 Wochen	"
18	220		0·5			300	5. VII.		"
19	240	X	2	29. IV.	25. VI.	200		8 "	Tuberculose
20	200		0·5		30. VI.			1 Tag	Peritonitis
21	250	XI	2	29. IV.	3. V.			4 Tage	"
22	260		2						"
23	340	XII	1	5. V.	14. V.			9 Tage	"
24	310		0·7			360	6. VII.	9 Wochen	normal
25	260	XIII	1	5. V.	10. V.			5 Tage	Peritonitis
26	270		1						"
27	290	XIV	2	5. V.	8. V.			3 Tage	"
28	300		1			350	18. VI.	6 Wochen	normal
29	320	XV	1	5. V.		310	14. VI.	6 "	Tuberculose
30	310		1			330	15. VI.		"
31	230	XVI	2	5. V.	10. V.			5 Tage	Peritonitis
32	280		1			280	16. VI.	6 Wochen	Tuberculose
33	270	XVII	1	6. V.		290	14. VI.	5½ Wochen	normal
34	270		1			270	16. VI.	6 Wochen	"
35	230		1		21. V.			2 "	Peritonitis
36	240	XVIII	1	6. V.		250	17. VI.	6 "	normal
37	230		2		14. V.			8 Tage	Peritonitis
38	230		1			235	15. VI.	5½ Wochen	normal
39	230	XIX	1	6. V.	2. VI.			4 Wochen	Zahlreiche Abscesse
40	250		1			210	17. VI.	6 "	Tuberculose
41	240		1			240	18. VI.	6 "	normal

Tabelle I. (Fortsetzung.)

Thier Nr.	Gewicht in grm	Milchproben	Menge in ccm	Tag der Injection	Gestorben	Gewicht in grm	Getödtet	Lebte	Bemerkungen
42	270	XX	2	6. V.	21. V.	250		2 Wochen	Tuberkelähnliche Veränderungen
43	240		1		6. VI.	240		$4\frac{1}{2}$ „	Peritonitis
44	250		1			250	19. VI.	4 „	normal
45	280	XXI	1	6. V.		340	16. VI.	4 „	„
46	270		2		10. V.			4 Tage	Peritonitis
47	210		1		10. V.		.	4 „	„
48	260	XXII	1	11. V.		310	11. VII.	$8\frac{1}{2}$ Wochen	normal
49	300		1		26. V.			2 Wochen	Peritonitis
50	270	XXIII	1	12. V.		270	19. VI.	$5\frac{1}{2}$ „	Tuberculose
51	310		1			300	3. VI.	3 „	beginnende Tub.
52	250	XXIV	1	18. V.		230	21. VI.	5 „	Tuberculose
53	220		1		30. V.			2 „	Peritonitis
54	210	XXV	2	18. V.	24. V.			6 Tage	„
55	360		1			400	12. VI.	4 Wochen	normal

Eine weitere Frage war nun zu beantworten, ob die die Tuberkelbacillen enthaltende Milch nur von Kühen stammte, die an schwerer allgemeiner Tuberculose mit Betheiligung des Euters erkrankt waren, oder auch von solchen Thieren, bei denen keine Eutertuberculose, sondern nur mehr oder weniger ausgesprochene Lungenerscheinungen nachweisbar waren.

Es liegen uns eine grössere Reihe diesbezüglicher Untersuchungen vor.

Schon 1880 hat Bollinger[1] mit der Milch einer an Eutertuberculose erkrankten Kuh, sowie mit Milch einer tuberculösen Kuh, deren Euter nicht nachweisbar erkrankt war, Impftuberculose der Versuchsthiere erzeugt.

Weitere Versuche wurden unter Bollinger's Leitung von May und Stein ausgeführt. May[2] verimpfte die Milch von 6 perlsüchtigen Kühen, erhielt aber nur in einem Fall ein positives Resultat; diese Milch stammte von einer hochgradig erkrankten Kuh mit Betheiligung des Euters. Stein[3] erzielte in einer Versuchsreihe von 14 intraperitonealen Impfungen mit Milch ebenfalls verschieden intensiv erkrankter perlsüchtiger Kühe in 4 Fällen positive Resultate; in diesen 4 Fällen waren die betreffenden milchgebenden Kühe hochgradig, jedoch ohne Eutertuberculose erkrankt.

[1] *Aerztliches Intelligenzblatt.* 1880. S. 409.

[2] Ueber die Infectiosität der Milch perlsüchtiger Kühe. *Archiv für Hygiene.* 1883. Bd. I. S. 121.

[3] Experimentelle Beiträge zur Infection durch Milch perlsüchtiger Kühe. *Inaug.-Dissertation.* Berlin 1884.

Bang,[1] der seit dem Jahre 1884 mehrfache Untersuchungen in dieser Richtung angestellt hat, fand im Ganzen bei 63 hochgradig tuberculösen Kühen nur in 9 Fällen (14 Procent) die Milch infectiös. Obwohl seiner Ansicht nach die Milch der Mehrzahl der tuberculösen Kühe nicht gefährlich ist, könne sie doch auch ohne sichtbare Eutererkrankung infectiös sein, falls die Tuberculose der betreffenden Kühe sehr weit fortgeschritten sei.

Auch Hirschberger[2] schliesst aus seinen Versuchen, dass die Milch ohne tuberculöse Erkrankung infectiös sein kann, selbst wenn eine nur geringgradige Lungenerkrankung vorhanden ist. Allerdings sei bei hochgradiger, generalisirter Tuberculose, oder bei Eutertuberculose die Infectionsfähigkeit der Milch am grössten. Unter 20 Fällen konnte Hirschberger 11 Mal (55 Procent) positive Impfversuche verzeichnen.

Ernst[3] hat von 36 tuberculösen Kühen ohne Eutertuberculose 114 Milchproben untersucht und die Milch in 28·57 Procent infectiös gefunden. Und zwar konnte in 50 Procent die Infectiosität durch Impfversuche allein, in 35·7 Procent gleichzeitig durch den mikroskopischen Befund von Tuberkelbacillen erwiesen werden.

Smith und Schröder[4] untersuchten 6 tuberculöse Kühe ohne nachweisbare Eutererkrankung und konnten in 2 Fällen = 33·2 Procent sowohl durch Impfversuche als durch den mikroskopischen Befund ein positives Resultat feststellen.

Schroeder[5] untersuchte ferner 31 Kühe, bei denen die tuberculöse Erkrankung entweder durch den klinischen Befund oder durch die Tuberculinreaction festgestellt war. Leider fehlen besonders über die Tuber-

---

[1] Bang, Ueber die Eutertuberculose der Milchkühe und über tuberculöse Milch. *Deutsche Zeitschrift f. Thiermedicin u. vergl. Pathologie.* 1884. — Tuberkelbacillen in der Milch tuberculöser Kühe. *I. Congress zum Studium der Tuberculose zu Paris.* Juli 1888. — Experimentelle Untersuchung über tuberculöse Milch. *Zeitschrift für Thiermedicin.* 1891. Bd. XVII. S. 1. — Le danger supposé de la consommation du lait et de la viande, sains en apparence, mais provenant d'animaux atteints de la tuberculose. *Mémoire lue au congrès d'hygiène et de démographie tenu à Londres 1891.* September.

[2] Hirschberger, Experimentelle Beiträge zur Infectiosität der Milch tuberculöser Thiere. *Archiv für klin. Medicin.* 1889.

[3] Ernst, How far may a cow be tuberculous, before her milk becomes dangerous as an article of food. *The amer. Journal of the med. sciences.* 1889 Nov.

[4] Smith u. Schroeder, Some experimental observations on the presence of tubercle bacilli in the milk of tuberculous cows when the udder is not visibly diseased. *U. S. Department of agriculture Bureau of animal industry.* Bulletin 3. 1893. p. 60.

[5] Schroeder, Further experimental observations on the presence of tubercle bacilli in the milk of cows. *Ebenda.* Bulletin 7. 1894. p. 75.



culinimpfung nähere Angaben. Eutertuberculose war bei sämmtlichen Thieren nicht nachweisbar. Nur bei 2 Kühen = 6·5 Procent, deren hochgradige tuberculöse Erkrankung sich in dem einen Fall noch durch die Section bestätigte, wurden durch Injection der centrifugirten Milch positive Impfresultate erzielt.

Von 6 Kühen, die auf Tuberculin reagirten und auch klinisch mehr oder minder tuberculös befunden wurden, wies Delépine[1] in 2 Fällen die Infectiosität der Milch durch Impfung nach. In diesen beiden Fällen war ausgesprochene, mikroskopisch constatirte Eutertuberculose vorhanden. Unter 7 tuberculösen Kühen, bei denen keine Tuberculinprüfung vorgenommen wurde, war nur in einem Fall die Milch infectiös. Bei dieser Kuh war die Erkrankung des Euters zweifelhaft.

Delépine hat ausserdem die Milch von 24 tuberculoseverdächtigen Kühen untersucht, von denen 10 eine ausgesprochene, 9 eine zweifelhafte Erkrankung des Euters zeigten. Die übrigen 5 Kühe hatten ein vollkommen gesundes Euter.

Tabelle II.

Milk from Udders		Producing Tuberculosis			
		Actual No.		Percentages	
A. Certainly diseased . .	10	5	6	50·0	31·5
B. Probably „ . .	9	1		11·1	
C. Healthy	5	0		0	0
Total	24	6			

Wir ersehen aus dieser kleinen Tabelle Delépine's, dass die Infectiosität der Milch nur bei den Kühen nachgewiesen werden konnte, deren Euter mit Sicherheit oder als zweifelhaft erkrankt angegeben wurde.

Einzelne der genannten Autoren, sowie ferner Johne, Woodhead und Fadyean u. A. haben sich auch mit dem mikroskopischen Nachweis der Tuberkelbacillen in der Milch beschäftigt und auf Grund des Befundes säurefester Bakterien Tuberculose der Milch diagnosticirt. Auf die Unzulänglichkeit des färberischen Nachweises werden wir später bei unseren eigenen diesbezüglichen Untersuchungen zurückkommen.

Stellen wir die Untersuchungsresultate der einzelnen genannten Autoren tabellarisch zusammen:

[1] The examination of cow's milk. *The Journal of Comparative Pathology and Therapeutics.* 1897. p. 192.



Tabelle III.

Autoren	Anzahl der untersuchten Kühe	Wie oft fanden sich Tuberkelbacillen in der Milch	Procentsatz Procent
May	6	1	16·6
Stein	14	4	28·5
Bang	63	9	14·0
Hirschberger	20	11	55·0
Ernst	36	10	28·5
Smith und Schroeder	6	2	33·2
Schroeder	31	2	6·5
Delépine	37	9	24·3
Nocard	54	3	5·5
Rabinowitsch u. Kempner	15	10	66·6

so ergiebt sich, dass die Milch tuberculöser Kühe durch den Thierversuch in ca. 6 bis 55 Procent der Fälle als infectiös erwiesen wurde. Die grösste Infectionsfähigkeit besass allerdings die Milch solcher Kühe, die entweder an fortgeschrittener allgemeiner Tuberculose oder an Tuberculose des Euters erkrankt waren. Andererseits zeigte sich jedoch in vereinzelten Fällen auch die Milch solcher Kühe infectiös, welche nur geringgradige Erscheinungen der Tuberculose aufwiesen.

Im Gegensatz zu diesen Erfahrungen steht die wiederholentlich ausgesprochene Ansicht Nocard's,[1] der eine Infectiosität der Milch nur bei ausgesprochener klinisch nachweisbarer Eutertuberculose annimmt. Sehr wenig gefährlich sei die Milch solcher Kühe, die eine nur mikroskopisch auffindbare Erkrankung des Euters zeigen. Nocard selbst konnte unter 54 an generalisirter Tuberculose erkrankten Kühen nur in 3 Fällen = 5·5 Proc., bei denen das Euter mit erkrankt war, durch Impfung Tuberkelbacillen in der Milch nachweisen.

Bei der so ausserordentlich wichtigen hygienischen Frage bezüglich der Infectiosität der Milch tuberculöser Kühe vermissen wir leider in den meisten citirten Arbeiten genaue Angaben über den klinischen Befund der erkrankten Thiere, eine eventuelle Tuberculinreaction, Sectionsbefund u. s. w. Diese Angaben sind aber unbedingt nöthig für die Beurtheilung der obigen Frage. Setzen wir im Allgemeinen voraus (was allerdings den Thatsachen kaum entspricht), dass die Milch hochgradig erkrankter oder mit aus-

[1] Nocard, *Les Tuberculoses animales.* Paris 1895 (Masson). p. 142 und Nocard et Leclainche, *Les maladies microbiennes des animaux.* Paris 1898 (Masson). p. 651.



gesprochener Eutertuberculose behafteter Kühe gar nicht oder nur unter den nöthigen Vorsichtsmaassregeln, wie Pasteurisirung, Sterilisation u. s. w. in den Handel gelangt, so ist nach dem heutigen Stande der Wissenschaft obige Frage folgendermaassen zu formuliren:

Enthält die Milch Tuberkelbacillen

1. bei beginnender Tuberculose ohne nachweisbare Erkrankung des Euters?

2. bei latenter, nur durch die Tuberculinreaction angezeigter Tuberculose?

Der zweite Punkt ist bei den Untersuchungen, die nach der epochemachenden Entdeckung des Tuberculins angestellt wurden, nicht genügend berücksichtigt.

Da zur Zeit der Hr. Minister für Landwirthschaft angeordnet hatte, dass an der Thierärztlichen Hochschule Heilversuche mit verschiedenen Mitteln bei tuberculösen Rindern ausgeführt würden, so war zu diesem Zwecke eine grössere Anzahl von tuberculösen Kühen angekauft worden, bei denen die Versuche unter Leitung von Hrn. Geheimrath Schütz stattfanden. Auf Anregung der Hrn. Geheimräthe Koch und Schütz versuchten wir an diesen Kühen die oben erörterte Frage unter Beachtung der von uns aufgestellten Gesichtspunkte zu beantworten.

Zur Untersuchung gelangten 15 Kühe, die sämmtlich auf Tuberculin reagirt hatten. Die Milchuntersuchung geschah bis auf eine Kuh (Nr. 15), ca. 3 Monate nach der Tuberculinimpfung. Die Milch wurde sauber und direct in sterilisirte Gläser hineingemolken, und zwar gelangte der zweite Theil der gut ausgemolkenen Milch 3 bis 4 Stunden nach dem Melken zur Untersuchung. Dieselbe wurde, wie bei unseren früheren Milchuntersuchungen, centrifugirt, und Fettschicht mit Bodensatz gemischt intraperitoneal Meerschweinchen injicirt. Ueber das Verfahren des Ausmelkens und des Centrifugirens liegen bei den bisherigen Milchuntersuchungen tuberculöser Kühe nur ungenaue oder überhaupt keine Angaben vor. Auf die Wichtigkeit des Centrifugirens ist besonders von Obermüller[1] bei Untersuchung der Berliner Marktmilch aufmerksam gemacht worden.

Es wurden gewöhnlich Mengen von 3 bis 5 ^{ccm} injicirt, starben die Thiere vorzeitig an Peritonitis, so geschah die wiederholte Impfung der betreffenden Proben mit 1 bis 2 ^{ccm}.

Von Fettschicht und Bodensatz wurden bei jeder Probe gesondert mikroskopische Präparate angefertigt und sowohl entfettet als auch nicht

[1] A. a. O.



entfettet nach Ziehl-Neelsen gefärbt. Es zeigte sich das überraschende Resultat, dass in 11 von 15 Proben säurefeste Stäbchen nachweisbar waren. Jedoch konnten wir nur in zwei Fällen, in denen die Präparate zahlreiche säurefeste Stäbchen enthielten, dieselben der Form und Lagerung nach mit ziemlicher Sicherheit als Tuberkelbacillen anerkennen, was auch durch den Thierversuch bestätigt wurde (durch Impfung wurde 10 Mal Tuberculose festgestellt). In den übrigen Fällen war eine Differenzirung des echten Tuberkelbacillus und des ebenfalls von Koch entdeckten tuberkelbacillenähnlichen Stäbchens, das von Petri[1] und Rabinowitsch[2] beschrieben wurde, unmöglich. Hatten wir uns nach dem mikroskopischen Befund mehr für Tuberculose oder Pseudotuberculose entschieden, so zeigte uns in diesen Fällen das Impfresultat, dass wir öfters in beiden Richtungen gefehlt. Es ist ja auch nicht ausgeschlossen, dass beide Bakterienarten neben einander in der Milch vorkommen können. Der häufige Befund der tuberkelbacillenähnlichen Stäbchen in der Milch und Butter darf uns nach den neueren Untersuchungen von Moëller[3] nicht Wunder nehmen, der nunmehr von dem vielfach als Futter benutzten Timotheusgras säurefeste Bakterien cultivirt hat. Da bei unseren Versuchen die Milch steril aufgefangen wurde, so müssen wir eine Ausscheidung dieser Bakterien durch die Milchdrüse annehmen.

Moëller hat ausserdem eine ähnliche säurefeste Bakterienart aus dem Darminhalte des Rindes, sowie aus Kuhmist isolirt, so dass wir die früheren Angaben über das häufige Vorkommen von Tuberkelbacillen im Kothe tuberculöser Rinder anzweifeln müssen.

So sprach sich noch auf der Naturforscher-Versammlung des Jahres 1897 Eber[4] dahin aus, dass „die bedeutungsvollste Quelle für die Beschickung der Milch mit Tuberkelbacillen die Verunreinigung der Milch mit Kothpartikelchen sei, welche Träger virulenter Tuberkelbacillen sein können. Man müsse sich vergegenwärtigen, dass die tuberkelbacillenhaltigen Auswurfsstoffe der Rinder nicht, wie beim Menschen per os, sondern in Folge permanenten Abschluckens erst nach dem Passiren des Darmcanales per anum den Körper verlassen".

Obschon die Angaben Eber's über die Entleerung des tuberkelbacillenhaltigen Sputums per anum zu Recht bestehen mögen, so müssen wir

---

[1] A. a. O.

[2] Zur Frage des Vorkommens von Tuberkelbacillen in der Marktbutter. *Diese Zeitschrift.* 1897. Bd. XXVI. S. 90.

[3] Ein Mikroorganismus, welcher sich morphologisch und tinctoriell wie der Tuberkelbacillus verhält. *Therapeutische Monatshefte.* November 1898.

[4] *Tuberculinprobe und Tuberculosebekämpfung beim Rinde.* Berlin, Parey 1898. (S. 3, Anmerkung.)



doch seiner Behauptung über die so häufige Verunreinigung der Milch durch mit Tuberkelbacillen inficirten Kothpartikelchen entgegentreten. Wenn Eber ohne diese Annahme bei dem „relativ seltenen Auftreten der Eutertuberculose und der generalisirten Tuberculose unter dem Rindvieh das verhältnissmässig häufige Vorkommen virulenter Tuberkelbacillen in der Milch vollständig unerklärlich findet", so werden wir weiter unten sehen, dass unsere steril entnommenen Milchproben auch bei geringgradiger tuberculöser Erkrankung ohne Betheiligung des Euters sehr häufig infectiös waren.

Kehren wir zu der mikroskopischen Untersuchung der Milch auf Tuberkelbacillen zurück, so müssen wir dieselbe nach den heutigen Erfahrungen, sowie nach unseren eigenen diesbezüglichen Ergebnissen als durchaus unzulänglich in der Frage der Infectiosität der Milch erklären.

Was unsere Impfversuche mit der Milch der 15 Kühe betrifft, die sämmtlich auf Tuberculin reagirt hatten, so haben wir in 10 Fällen positive Resultate erhalten = 66·6 Procent (s. Tabelle IV). Schliessen wir eine Milchprobe aus (Kuh 5), die eine gelblich gallertartige Flüssigkeit darstellte, und bei deren Verimpfung die Thiere an Peritonitis zu Grunde gingen, so ergiebt sich ein noch höherer Procentsatz von 71·4, hinter dem die Procentzahlen der früheren Autoren (s. S. 142) bedeutend zurückstehen.

Bezüglich des klinischen Befundes der Kühe, welcher durch Hrn. Prof. Eggeling festgestellt war, ersehen wir aus Tabelle V, dass unter den 10 Kühen, deren Milch sich als infectiös erwies,

1. nur eine einzige (Kuh 12) klinisch ausgesprochene Eutertuberculose zeigte.

2. Bei Kuh 9 war eine histologisch nachweisbare Eutertuberculose vorhanden.

3. Bei Kuh 1, 6 und 11, die fortgeschrittene generalisirte Tuberculose aufwiesen, ergab das histologische Bild nur eine chronische interstitielle Entzündung, aber keine Tuberculose des Euters.

4. Kuh 4 zeigte geringgradige Tuberculose.

5. Bei Kuh 10 konnte erst bei der zweiten und dritten Untersuchung beginnende Tuberculose festgestellt werden.

6. Kuh 8 wies bei der ersten Untersuchung Rasselgeräusche auf, während die beiden folgenden Untersuchungen keine Erscheinungen der Tuberculose darboten.

7. Kuh 2 zeigte keine Erscheinungen der Tuberculose bei 3maliger Untersuchung. Auch bei Kuh 14 waren keine sichtbaren Spuren der Tuberculose vorhanden.



Tabelle IV.
Milchuntersuchung der 15 tuberculösen Kühe, 1898.

Meerschweinchen Nr.	Gewicht in grm	Milch von Kuh Nr.	Mikroskopische Untersuchung	Injicirt. Milchmenge in ccm	Tag der Injection	Gestorb. nach ? Tagen	Gewicht in grm	Getödtet nach ? Tagen	Sectionsbefund
1	430	1		5	18. VIII.		510	42	Tuberculose
2	480			3			600	58	normal
3	380			2·5	22. VIII.		470	41	Tuberculose
4	410			2·5			490	53	„
5	330	2	Tuberkelbacillen	5	22. X.		415	53	„
6	330			2·5			570	53	„
7	420	3	vereinzelte säurefeste Stäbchen	5	20. X.		605	53	vereinzelte Tbähnliche Knötchen
8	430			3			730	53	normal
9	340	4	vereinzelte säurefeste Stäbchen	4	21. X.		300	53	Tuberculose
10	450			3		10	320	—	Peritonitis
11	430	5	zahlr. Kokken	3	21. X.	2	—	—	„
12	400			2		33	305	—	zahlreiche Abscesse, Kokken
13	410	6	säurefeste Stäbchen	5	21. X.		460	53	Tuberculose
14	430			3		31	370	—	Peritonitis
15	330	7	säurefeste Stäbchen	4	22. X.	12	210	—	Peritonitis, säurefeste Stäbchen
16	300			2		11	215	—	„
17	410			3	8. XI.		530	38	normal
18	430			1			670	51	„
19	280	8	zahlreiche säurefeste Stäbchen	4	22. X.	29	180	—	Tuberculose
20	310			2			340	53	„
21	220	9	vereinzelte säurefeste Stäbchen	5	27. VIII.		480	48	normal
22	250			3		6	200	—	Peritonitis
23	320			5	20. X.		280	53	Tuberculose
24	460			3		20	360	—	Pneumonie
25	330	10	ganz vereinzelte säuref. Stäbchen	5	24. X.	15	285	—	Leberabscess
26	330			2			510	51	Tuberculose
27	270	11	wenige säurefeste Stäbchen	4	22. X.	16	—	—	Peritonitis
28	410			2		14	310	—	„
29	380			3	8. XI.		540	38	Tuberculose
30	430			1			600	51	normal
31	420	12	Tuberkelbacillen	1	21. X.	25	300	—	Tuberculose
32	300			1		19	200	—	„
33	350	13		3	31. X.		452	45	Tbähnliche Knötchen
34	420			3			590	59	normal
35	380	14	vereinzelte säurefeste Stäbchen	4	31. X.		480	45	Tuberculose
36	360			2			570	59	normal
37	360	15		2	21. X.		770	49	„
38	370			1			740	49	„

Tabelle V. Untersuchungsprotocoll der 15 tuberculösen Kühe.

Nr.	Alter	Tuberculinimpfung	3. Juli 1898 erste Untersuchung	18. October 1898 zweite Untersuchung	5. December 1898 dritte Untersuchung	Sectionsbefund	Milchuntersuchung
1	ca. 12 Jahre alt.	3. VII. Durchschnittl. Körpertemperatur vor der Tuberculinimpfung 39·2 nach „ „ 41·2 Differenz 2·0	Rauhes Athmen. Schwellung der supramammalen Lymphdrüsen. Husten.	Rauhes Athmen und Husten. Schwellung der Euterlymphdrüsen. Kachexie. Durchfall (wahrscheinlich Darmtuberculose).		Gest. 18./19. X. 1898. Acute und chronische tuberculöse Processe in den Lungen, Abscesse zwischen Haube und Zwerchfell; abgekapselte Leberabscesse. Chronische interstitielle Euterentzündung.	Tuberkelbacillen in der Milch.
2	ca. 12 Jahre.	3. VII. Durchschnittl. Körpertemperatur vor der Tuberculinimpfung 38·7 nach „ „ 41·1 Differenz 2·4	Keine Erscheinungen der Tuberculose.	Keine Erscheinungen nachzuweisen.	Nährzustand mittelmässig. Keine Erscheinungen.		Tuberkelbacillen.
3	ca. 5 Jahre.	18. VII. Durchschnittl. Körpertemperatur vor der Tuberculinimpfung 39·3 nach „ „ 41·3 Differenz 2·0	Athembeschwerden, rauhes Athmen und Rasseln.	Rauhes Athmen und Rasseln. Erschwerte Athmung, Rasselgeräusche besonders in dem hinteren Lungenlappen Reibegeräusche beiders.	Mattes Haarkleid. Oefteres Husten; rauhes Athmen; spärlich. Rasseln. Rechts Bronchialathmen, links Dämpfung.		Keine Tuberkelbacillen.
4	ca. 5 Jahre.	18. VII. Durchschnittl. Körpertemperatur vor der Tuberculinimpfung 39·2 nach „ „ 41·9 Differenz 2·7	Rauhes Athmen und spärliches Rasseln.	Rauhes Athmen.	Nährzustand mittelmässig. Athmung beschleunigt u. erschwert; rauhes Athmen m. spärl. Rasseln. Husten.		Tuberkelbacillen.

Tabelle IV. (Fortsetzung.)

Nr.	Alter	Tuberculinimpfung	3. Juli 1898 erste Untersuchung	18. October 1898 zweite Untersuchung	5. December 1898 dritte Untersuchung	Sectionsbefund	Milchuntersuchung
5	ca. 8 Jahre alt.	18. VII. Durchschnittl. Körpertemperatur vor der Tuberculinimpfung 38·6 nach „ „ 40·6 Differenz 2·0	Rauhes Athmen und spärliches Rasseln.	Rauhes Athmen.	Nährzustand gut. Nichts Abnormes nachzuweisen.	Getödtet 16. I. 1899. Acute miliare Lungentuberculose und tuberculöse Erkrankung der mediastinalen, bronchialen und mesenterialen Lymphdrüsen. Miliare Tuberkel in der Leber und am Darme. Chronische interstitielle Entzündung und alter Abscess im Euter.	Milch gelb gallertartig zahlreiche Eiterzellen u. Kokken enthaltend.
6	ca. 7 Jahre	25. VII. Durchschnittl. Körpertemperatur vor der Tuberculinimpfung 39·1 nach „ „ 40·8 Differenz 1·7	Husten; links scharfes Athmen.	Häufiger Husten und reichliche Rasselgeräusche beiderseits.	Glattes Haar. Nährzustand besser. Häufiger rauher Husten. Reichliche trocken u. feuchte Rasselgeräusche. Beiderseits rauhes Athmen.	Getödtet 8. I. 1899. Lungentuberculose mit Bildung ulceröser Cavernen. Käsige Herde in der Leber und den mesenterialen Drüsen, sowie in mehreren anderen Körperlymphdrüsen. Partielle chronische interstitielle Euterentzündung.	Tuberkelbacillen.
7	ca. 8 Jahre	25. VII. Durchschnittl. Körpertemperatur vor der Tuberculinimpfung 39·6 nach „ „ 41·2 Differenz 1·6	Häufiger Husten; rechts Reibegeräusche, links kleine Dämpfung.	Athembeschw., rauh. Athmen, l. kl. Dämpfung a. d. Lungenwurzel; häufiger Husten, spärl. Rasselgeräusche i. rechten Hinterlappen.	Rauhes Haar. Oefterer Husten.		Keine Tuberkelbacillen

Tabelle V. (Fortsetzung.)

Nr.	Alter	Tuberculinimpfung	3. Juli 1898 erste Untersuchung	18. October 1898 zweite Untersuchung	5. December 1898 dritte Untersuchung	Sectionsbefund	Milchuntersuchung
8	ca. 5 Jahre alt.	25. VII. Durchschnittl. Körpertemperatur vor der Tuberculinimpfung 38·9 nach „ „ 40·6 Differenz 1·7	Rechts Rasseln.	Keine Erscheinungen der Tuberculose.	Glattes Haar, guter Nährzustand. Nichts Abnormes.		Tuberkelbacillen.
9	5 bis 6 Jahre.	1. VIII. Durchschnittl. Körpertemperatur vor der Tuberculinimpfung 39·2 nach „ „ 40·9 Differenz 1·7	Athembeschwerden; rauhes Athmen.	Erschwertes rauhes Athmen. Häufiger Husten, trockene Rasselgeräusche, besonders rechts oben. Bronchialathmen. In der Mitte rechts Dämpfung.	Hochgradige Kachexie. Dyspnoë, Unvermögen aufzusehen. Keuchendes Athmen, reichl. trockene Rasselgeräusche. Dämpfung oben beiderseits.	Gestorben 6. XII. 1898. Ausgebreitete alte und frische tuberculöse Veränderungen d. Lungen. Tuberculose am Darm, am Uterus, an Brust und Bauchfell und in zahlreichen Lymphdrüsen. Chronische interstitielle Entzündung u. Tuberculose des Euters.	Tuberkelbacillen.
10	5 bis 6 Jahre.	1. VIII. Durchschnittl. Körpertemperatur vor der Tuberculinimpfung 39·4 nach „ „ 41·3 Differenz 1·9	Keine Erscheinungen.	Rauhes Athmen, Athembeschwerden, Husten, verstärktes Vesiculärgeräusch.	Rauhes Haar. Frequentes und rauhes Athmen.		Tuberkelbacillen.

Tabelle V. (Fortsetzung.)

Nr.	Alter	Tuberculinimpfung	3. Juli 1898 erste Untersuchung	18. October 1898 zweite Untersuchung	5. December 1898 dritte Untersuchung	Sectionsbefund	Michuntersuchung
11	ca. Jahre alt.	1. VIII. Durchschnittl. Körpertemperatur vor der Tuberculinimpfung 38·9 nach „ „ 41·7 Differenz 2·8	Häufiger Husten. Rasselgeräusche.	Spärliches Rasseln, Husten; rauhes Athmen.	Dürftiger Nährzustand. Verstärktes Bläschengeräusch, seltener Husten, spärliche Rasselgeräusche.	Getödtet 8. I. 1899. Umfangreiche alte und frische tuberculöse Zustände in den Lungen. Käsige Veränderungen in der Leber und zahlreichen Lymphdrüsen. Beiderseitige katarrhalisch eiterige und partielle chronische interstitielle Euterentzdg.	Tuberkelbacillen.
12	ca. 6 bis 7 Jahre.	7. VIII. Durchschnittl. Körpertemperatur vor der Tuberculinimpfung 39·0 nach „ „ 41·2 Differenz 2·2	Scharfes Athmen. Husten.	Husten.	Nährzustand besser; frequentes Athmen; seltener Husten, Rasseln. Eutertuberculose.		Tuberkelbacillen.
13 u. 14		Positive Reaction auf Tuberculin.	Keine sichtbaren Spuren der Tuberculose.				Keine Tuberkelbacillen. Tuberkelbacillen.
15		16. XII. Durchschnittl. Körpertemperatur vor der Tuberculinimpfung 39·4 nach „ „ 42·0 Differenz 1·6	Untersuchung den 3. I. 1899. Beschleunigte Respiration, rauhes Athmen mit spärlichem Rasseln, besonders üb. d. Hinterlappen rechts. Leichte Tympanitis; hochtrag. Dämpfung über dem rechten Hinterlappen.				Keine Tuberkelbacillen.

Diese Zusammenstellung zeigt uns, dass unsere Untersuchungen nicht nur bezüglich des hohen Procentsatzes der inficirten Milch, sondern auch hinsichtlich des klinischen Befundes der untersuchten Kühe bedeutend von den Angaben früherer Autoren abweichen, die in den meisten Fällen nur bei Eutertuberculose oder bei sehr fortgeschrittener tuberculöser Erkrankung Tuberkelbacillen in der Milch gefunden haben.

Nach unseren Ergebnissen müssen wir die oben von uns präcisirten Fragen dahin beantworten, dass

1. sowohl bei beginnender Tuberculose ohne nachweisbare Erkrankung des Euters, als auch

2. bei latenter, nur durch die Tuberculinreaction angezeigter Tuberculose die Milch Tuberkelbacillen enthalten kann.

Wir verweisen nochmals bezüglich des ersten Punktes auf Kuh 4, 10 und 8; bezüglich der zweiten Forderung auf Kuh 2 und 14, die nur mittels der Tuberculinprobe für tuberculös befunden wurden. Es ist auffallend, dass Kuh 2 sogar zu den beiden Fällen gehört, bei welchen wir mikroskopisch mit ziemlicher Sicherheit die Tuberkelbacillen nachweisen konnten.

Was die übrigen fünf mehr oder minder erkrankten Kühe betrifft, in deren Milch wir keine Tuberkelbacillen fanden, so wollen wir hier nur bemerken, dass wir aus äusseren Gründen verhindert waren, wiederholte Impfungen mit der Milch dieser Thiere vorzunehmen. Dass solche Wiederholungen aber erforderlich sind, beweist uns die Milchuntersuchung von Kuh 9. Wir impften am 27. VIII. 1898 mit dieser Milch zwei Meerschweinchen in der gewöhnlichen Weise. Die aus demselben Milchmateriale vom 27. VIII. hergestellte gesalzene und ungesalzene Butter[1] wurde 4 Tage später an vier Meerschweinchen verimpft, und es zeigte sich das interessante Resultat, dass die Milchuntersuchung ein negatives Ergebniss lieferte, während von beiden Butterproben je ein und zwei Meerschweinchen Tuberculose aufwiesen. Eine nochmalige Milchuntersuchung von Kuh 9 lieferte jedoch einen positiven Befund.

Hatte man bisher nur eine unsichere Vorstellung bezüglich der Infectionsfähigkeit der Milch solcher Kühe, die nur auf Tuberculin reagirten, ohne sichtbare Erscheinungen der Tuberculose zu zeigen, so halten wir uns trotz der geringen Zahl unserer Versuche zu der Annahme berechtigt,

[1] Die Herstellung dieser und anderer Butterproben, welche wir für andere Versuchszwecke benöthigten, verdanken wir der grossen Liebenswürdigkeit des Hrn. Directors Dr. Wollny und Hrn. Dr. Baier vom Nahrungsmittel-Untersuchungsamt der Landwirthschaftskammer für die Provinz Brandenburg zu Berlin.



dass die Milch auf Tuberculin reagirender Kühe in jedem Falle als tuberculoseverdächtig bezeichnet werden muss.

Wir ersehen daraus, dass in der uns interessirenden Frage dem diagnostischen Werthe des Tuberculins eine grosse Bedeutung inne wohnt, und müssen demnach neben der klinischen Untersuchung, sowie der bakteriologischen Ueberwachung der Melkthiere, welche allerdings schwer durchführbar sein dürfte, die Tuberculinprobe als die wichtigste Maassnahme zur Gewinnung einer tuberkelbacillenfreien Milch empfehlen. Wir können nach unseren Untersuchungen den Standpunkt Eber's[1] nicht theilen, nach dessen Ansicht „der Schwerpunkt für die Begutachtung und weitere Behandlung ausschliesslich der Milchproduction dienender Viehbestände nicht in der Tuberculinprobe (die keinerlei Rückschluss auf die Ausbreitung des tuberculösen Processes im Thierkörper gestattet), sondern in der klinischen Untersuchung und bakteriologischen Ueberwachung der Melkthiere liegt; die wichtigste Maassnahme sei nicht die Trennung der reagirenden und nicht reagirenden Thiere, sondern die möglichste Ausmerzung der klinische Erscheinungen der Tuberculose zeigenden Rinder aus dem Bestande".

Wir müssen, wie gesagt, nach unseren Ergebnissen der Tuberculinprobe eine weit grössere Bedeutung bezüglich der Frage der Infectiosität der Milch beimessen, als der klinischen Diagnose.

Hoffen wir, dass private und staatliche Fürsorge sich der Tuberculinimpfungen mehr annehmen werde wie bisher, um den der menschlichen Gesundheit durch Milch und Milchproducte erwachsenden Gefahren entgegenzuarbeiten.

---

[1] A. a. O. S. 72.



Untersuchungen über die Strahlenpilzformen des Tuberculoseerregers.

Von

Otto Schulze,

approb. Arzt aus Magdeburg, z. Z. Assistenzarzt a. d. grossherzogl. mecklenburg. Irrenanstalt Sachsenberg.

(Hierzu Taf. I, Figg. 1—10.)

Trotzdem wohl kein pathogener Mikroorganismus wegen seiner grossen praktischen Bedeutung so gründlich und von so vielen Forschern untersucht worden ist, wie der von Rob. Koch entdeckte und als Tuberkelbacillus bezeichnete Mikroorganismus, so ist man doch selbst im Augenblick über seine botanische Stellung noch keineswegs völlig in's Klare gekommen und erst in den letzten Jahren sind erheblichere Fortschritte in der Erkenntniss seiner Stellung angebahnt worden. Zwar sprach schon im Jahre 1884 Prof. Angelo Petrone auf Grund seiner bei einem Falle von tuberculöser Leptomeningitis gefundenen Entwickelungsstadien des Tuberkelpilzes die Ansicht aus, dass jedenfalls diesem Mikroorganismus eine höhere Stellung im System zukomme, und später äusserte sich auch Metschnikoff (2) dahin, dass der „Tuberkelbacillus" nicht ein Endstadium, sondern nur einen Zustand im Entwickelungscyklus eines Fadenbacteriums repräsentirt. Aber erst in der 1892 erschienenen, im Hüppe'schen Institut verfassten Arbeit von Fischl (3) wurde zum ersten Male eingehend die Ansicht vertheidigt, dass der Tuberkelpilz die Bezeichnung Bacillus mit Unrecht führt. Das Vorhandensein verzweigter Individuen unter den Tuberkelpilzen, das Auftreten keulenförmiger Anschwellungen bei denselben, sowie die auffällige Aehnlichkeit der Culturen von Aktinomyces hominis mit denen des Erregers der Tuberculose des Menschen veranlassten ihn, den Tuberkelpilz als einen „in seiner saprophytischen Form wahrscheinlich einer höheren pleomorphen Pilzgattung angehörigen Pilz zu betrachten".



Seitdem sind durch Coppen Jones (4), Hayo Bruns (5) und Andere zahlreiche Befunde mitgetheilt worden, die uns zwingen, den Tuberkelpilz zu den höher organisirten Pilzen zu rechnen und deswegen hat ihn Kruse (6) auch den Streptotricheen angereiht, Lehmann (7) sogar unter seiner Gattung Mykobakterien abgehandelt.

Abgesehen von den Beobachtungen Angelo Petrone's bei Leptomeningitis, erstrecken sich aber die Untersuchungen über Tuberkelpilze nur auf dem Brütschrank entnommene Reinculturen und auf Material, das aus Sputis und dem bröckeligen Inhalte von Cavernen der Lunge stammt. Erst Babes u. Levaditi (8) berichteten über Befunde in thierischen Geweben, indem sie am 5. April 1897 der Akademie der Wissenschaften zu Paris ihre Versuche über das Resultat subduraler Injection von Bacillen der Tuberculose des Menschen bei Kaninchen bekannt gaben und später in den „Archives de méd. experiment. et d'anatomie pathologique" veröffentlichten. Es wurde Kaninchen zwischen harte Hirnhaut und Gehirn 1 ^{ccm} Reincultur von wenig virulenten Bacillen der Tuberculose des Menschen, und zwar von Material der verschiedensten Herkunft eingespritzt. Es kam stets zu dem gleichen Erfolg, wenn die Culturen überhaupt noch virulent waren. Die Untersuchung der Impfstelle und ihrer unmittelbaren Umgebung nach 8 bis 14 Tagen liess die Bacillen in kleinen Haufen angeordnet erkennen, umgeben von ein- und mehrkernigen Leukocyten. Nach 30 Tagen zeigten sich derartige Herde gänzlich verändert. Sie hatten eine ausgesprochene strahlige Gestalt angenommen, die langgliederigen Bacillen waren verzweigt und an ihrem freien Ende kolbig verdickt. Bei stärkerer Vergrösserung traten die Zweigbildungen noch deutlicher hervor, und konnte man theilweise die Bacillen knopfförmig in den Kolben endigen sehen. Die Bacillen waren nach Ehrlich's Methode, die Kolben durch Methylenblau schwach gefärbt. Andere Abbildungen zeigen einen 28 Tage alten Herd, der durch Färbung mit Anilinsaffranin und nachfolgender Entfärbung mit Jod in seiner Gestalt eine auffallende Aehnlichkeit mit Aktinomycesdrusen im Gewebe zeigt. Bei stärkerer Vergrösserung lassen sich die Kolben weit in den bacillären Herd hinein verfolgen. Die Wechselbeziehungen von Kolben und Bacillen werden noch dadurch deutlicher, dass man hin und wieder radiär angeordnete, intensiv gefärbte Bacillen in Kolben endigen sieht, welche mehrfache Einschnürungen aufweisen. Dadurch bekommt der Kolben ein rosenkranzähnliches Aussehen. Etwas später veröffentlichte Prof. Dr. P. L. Friedrich (9) aus dem chirurgisch-poliklinischen Institut der Universität Leipzig seine unabhängig von Babes angestellten Beobachtungen über strahlenpilzähnliche Wuchsformen des Tuberkelbacillus im Thierkörper. Er hatte trotz ganz anderer Versuchsart im Wesentlichen den gleichen Erfolg, wie Babes und Levaditi. Unter

aseptischen Vorsichtsmaassregeln injicirte er Kaninchen 0·2 bis 0·5 ccm einer Aufschwemmung von Tuberkelbacillen in physiologischer Kochsalzlösung von der Carotis dextra aus in die linke Herzkammer. Ausgewachsene Kaninchen erlagen der Infection innerhalb 24 bis 86 Tagen. Die Tuberkeleruptionen traf man am zahlreichsten in den mit sogenannten Endarterien versehenen Organen. Bei gewöhnlicher Tuberkelbacillenfärbung — nach Koch-Ehrlich, Ziehl-Neelsen — bot sich nur das Bild der Infiltrationsherde dar. Nach der von Friedrich angegebenen Vorfärbung mit Victoriablau und Differenzirung mit Alkalien „erhält man an den Präparaten von Niere, Gehirn und Iris die Bacillen inmitten eines schönen Kranzes strahlig angeordneter und so gestalteter Keulen oder Kolben, wie wir sie als für Actinomykose charakteristisch anzusehen pflegen". Diese Gebilde hat Friedrich mit seiner Färbung nur in der Zeit vom 15. bis 30. Tage nach der Injection darstellen können. Beobachtet hat er sie auch bei Injectionen in die venöse Blutbahn, jedoch waren sie nicht so vollkommen und gleichmässig, wie bei arterieller Infection.

Die von Babes und Levaditi, sowie von Friedrich beschriebenen Wuchsformen des Tuberkelpilzes bringen weiteres Material für eine thatsächliche Verwandtschaft zwischen ihm und dem Strahlenpilz. Aber es blieben noch eine Reihe von Fragen über die Bedeutung der Strahlenpilzformen des Tuberkelpilzes ungelöst. Während Babes und Levaditi die Meinung vertreten, dass die Keulenbildungen nur zu Stande kommen bei Benutzung schwach virulenter Culturen zur Impfung und somit geneigt sind, sie für eine Art regressiver Bildungen zu halten, glaubt Friedrich im Gegentheil, dass es sich um Wuchsformen handelt, die gerade auf der Entwickelungshöhe eintreten, da er sie bei seinen intraarteriellen Injectionen nur auf der Höhe der Krankheit vorfand. Aus diesen Gründen wurde ich von Hrn. Prof. Lubarsch veranlasst, die Versuche der genannten Autoren nachzuprüfen und zu modificiren, um womöglich die Bedingungen, unter denen es zur Bildung der Strahlenpilzformen und Keulenbildung des Tuberkelpilzes kommt, genauer zu erforschen.

Um gleich einen Punkt vorwegzunehmen, so will ich bemerken, dass die Annahme von Babes und Levaditi, wonach nur bei Benutzung von schwach virulenten Culturen die Strahlenpilzformen auftreten sollen, sich nicht ganz bestätigt hat. Bei meinen Versuchen wurden Tuberkelpilzculturen von fünffach verschiedener Herkunft und auch etwas ungleicher Virulenz verwendet. Eine war von Prof. Lubarsch von tuberculösen Meerschweinchen gezüchtet und tödtete Meerschweinchen bei subcutaner Impfung in durchschnittlich 8 Wochen; eine zweite war von Prof. Ostertag überlassen worden, sie tödtete Meerschweinchen in durchschnittlich 6 Wochen; ebenso eine dritte aus dem Reichsgesundheitsamte stammende



in 5 bis 6 Wochen; eine vierte aus dem Kral'schen Laboratorium in Prag bezogene Cultur war etwas weniger virulent, von zwei damit subcutan geimpften Meerschweinchen starb eines nach 10 Wochen, eines erkrankte überhaupt nicht. Endlich zeigte eine fünfte aus dem städtischen Krankenhause am Urban (Berlin) stammende, sehr alte Cultur ebenfalls nur geringe Virulenz; Meerschweinchen starben nach intraperitonealer Injection grösserer Mengen nach 6 bis 7 Wochen. Trotz dieser verschiedenen Virulenz konnten mit allen benutzten Culturen Strahlenpilzformen erzeugt werden; am frühesten traten sie allerdings bei der am schwächsten virulenten Cultur Nr. V auf, sodass auf die Entwickelung dieser Formen die Virulenz nicht ganz ohne Einfluss zu sein scheint.

Die von mir angestellten Versuchsreihen können in zwei verschiedene Gruppen eingetheilt werden. In einer Reihe von Versuchen wurden den Kaninchen nach dem Vorgange von Friedrich Tuberkelpilze durch die Carotis in den linken Ventribel injicirt, in der anderen wurden die Impfungen unmittelbar in verschiedene Organe vorgenommen. Im Anfang beschränkte ich mich bei diesen Versuchen auf das Gehirn, wobei ich aber nicht wie Babes und Levaditi 1 ^{ccm} Flüssigkeit subdural injicirte, sondern nur von Glycerinagarculturen 2 bis 3 Platinnadelspitzen voll unter die Dura brachte. Später wurden noch locale Impfungen vorgenommen in Niere, Leber, Hoden und Mamma.

Bezüglich der Versuchstechnik verweise ich auf die ausführliche Wiedergabe unserer Versuchsprotocolle. Hier sei nur noch Einiges über die Präparationsart der bei den Experimenten gewonnenen Organe gesagt. Sie wurden in 10procent. Formol gehärtet, dann in Paraffin eingebettet; die Schnitte wurden nach der Ziehl-Neelsen'schen Methode, nach Weigert's Fibrinfärbungsmethode, nach Birch-Hirschfeld's[1] Aktinomycesfärbemethode und der Friedrich'schen Methode gefärbt.

I. Intraarterielle Injectionen.

Ich gehe jetzt zunächst dazu über, unsere Injectionsversuche in die Carotis, soweit sie von Interesse sind, zu schildern. Wir wählten möglichst grosse und kräftige Thiere aus, die eine leichtere Ausführung der Operation und grössere Widerstandsfähigkeit gegen ihre Folgen gewährleisteten. In Aethernarkose wurde nach dem Vorgange von Friedrich die rechte Carotis freigelegt, ihr peripheres Ende unterbunden, das centrale mit Pincette abgeklemmt. Durch einen Schlitz in der Arterienwand wurde ein mehrere Centimeter langes Capillarrohr, an dessen oberen Ende sich ein durch eine Klemme verschlossenes Drainröhrchen befand, in das Gefäss

[1] Siehe Schmorl, *Die patholog.-histolog. Untersuchungsmethoden.* S. 92.

lose eingebunden und nach Entfernung der Carotisklemme unter leicht drehender Bewegung langsam in die Aorta vorgeschoben. War die Spitze nach Ueberwindung der Klappen in den linken Ventrikel eingedrungen, so wurden mehrere Cubikcentimeter der in erwärmter physiologischer Kochsalzlösung fein vertheilten Tuberkelpilzculturen allmählich eingespritzt. Darauf wurde die Glascanüle zurückgezogen, das centrale Ende der Carotis ebenfalls unterbunden und die Hautwunde vernäht. Die Thiere erholten sich meist nach 1 bis 2 Stunden völlig, fingen auch bald wieder an zu fressen. Bei der Schwierigkeit der Injection fehlte es natürlich Anfangs nicht an einigen Misserfolgen; ein Thier verloren wir durch Abbrechen der Canüle, bei einem anderen war durch eine zu spitze Capillare die Wand des linken Ventrikels durchstossen, so dass die injicirte Flüssigkeit sich in den Herzbeutel ergoss; zweimal verendeten die Thiere auf dem Operationstisch wahrscheinlich durch Verstopfung zahlreicher Gehirngefässe mit gröberen Tuberkelpilzconglomeraten. Von den bemerkenswerthesten Versuchen lasse ich die Versuchsprotocolle folgen.

Bei Kan. 18 traten unmittelbar nach der Injection Zeichen einer Hirnarterienembolie auf, so dass wir bereits fürchteten, das Thier zu verlieren. Nach 2 Tagen hat es sich vollkommen erholt. Wir exstirpirten 16 Tage nach der Injection eine Niere. Befund: Nierenkapsel leicht abziehbar, unter derselben in der Nierenrinde über die Oberfläche ein wenig hervorragende, graue, miliare Knötchen in geringer Anzahl. Tiefere Schichten der Rinde und Marksubstanz frei von Tuberkeln. Die mikroskopische Untersuchung einiger dieser Tuberkel ergiebt zunächst typischen Bau von Tuberkeln mit Riesenzellen und Verkäsungen. Tuberkelpilze finden sich theils disseminirt, theils in Gruppen angeordnet vor. Einige dieser Herde zeigen einen eigenthümlichen Bau, indem die peripheren Partieen strahlig zum Centrum angeordnet sind und vielfach die peripheren Stäbchen wie kleine Stacheln aus dem ganzen Herde hervorstehen. Um solche Herde findet sich stets eine Ansammlung von gelappten und mehrkernigen Leukocyten. Richtige Keulenbildungen werden jedoch nicht gefunden.

Zwei Tage nach der Nierenexstirpation stirbt das Thier plötzlich, und es muss der schnelle Tod mit diesem Eingriff insofern in Zusammenhang gebracht werden, als der operative Eingriff für das bereits hochgradig von Tuberculose ergriffene Tier als ein zu schwerer betrachtet werden muss. Es ist in seiner Ernährung beträchtlich zurückgegangen; neben disseminirter Lungentuberculose und Nierentuberculose besteht ausgedehnte Tuberculose der Aorta ascendens, und zwar theils in Form confluirender Miliartuberkel, theils der tuberculösen Geschwürbildung. Milz und Leber völlig frei von Tuberculose, dagegen finden sich an der Gehirnrinde vereinzelte Tuberkel. In Iris und Chorioidea einige Tuberkel. Der mikro-



skopischen Untersuchung wurden eingehend Niere, Aorta, Iris, Chorioidea, Darm und einzelne Gehirnstücke unterworfen.

a) Niere. In der Nierenrinde zahlreiche verkäste und Riesenzellentuberkel, die sich mitunter ganz deutlich an zum Theil verkäste Glomeruli anschliessen, in deren Capillaren zahlreiche Tuberkelbacillen vorhanden sind. In den Tuberkeln, die in viele Serienschnitte zerlegt werden, fanden sich zunächst nur vereinzelt Tuberkelbacillen. Dann kam man aber ganz plötzlich auf grössere Herde, die einen strahligen Bau zeigten und an deren Peripherie man bei Immersionsvergrösserung und Abblendung ungefärbte kleine keulenförmige Anschwellungen fand (bei Färbung nach Ziehl-Neelsen). Diese Herde traten bei Weigert'scher Färbung noch deutlicher hervor, indem hier die kleinen kolbigen Verdickungen noch auffallender waren. Die Friedrich'sche Methode gab keine sehr zufriedenstellende Bilder.

b) Von der Aorta wurden erstens Stellen mit Miliartuberkeln und zweitens tuberculöse Geschwüre untersucht. Die Miliartuberkel, über denen das Endothel zum Theil noch intact hinwegzieht, enthalten nur vereinzelt Tuberkelbacillen, hier und da auch kleinere Gruppen. In den tuberculösen Geschwüren sind die Tuberkelpilze viel reichlicher, liegen häufig in Gruppen innerhalb von Zellen und lassen wenigstens stellenweise Andeutungen strahligen Baues erkennen. Bei Anwendung der von Birch-Hirchfeld für Aktinomyceskolben angegebenen Färbung (Hämatoxylin, Carbolsäurefuchsin, Gram'sche Lösung, Differenzirung mit Pikrinsäurealkohol) sieht man auch an einigen etwas grösseren Herden sich different färbende kolbige Anschwellungen.

c) In Iris und Chorioidea fanden sich einzelne Tuberkel mit nur spärlichen Tuberkelbacillen; strahlige Herde wurden nicht gefunden.

d) In der Gehirnrinde vereinzelt kleinzellige und leicht verkäste Tuberkel, die stets dicht an Capillaren oder kleinen Arterien sitzen. Einzelne Tuberkel enthalten in ihrem Centrum Tuberkelpilzherde von strahligem Bau und mit kleinen spitzen Fortsätzen.

e) Auch einige Lungenherde wurden untersucht, aber nicht so ausgiebig, wie die übrigen Organe. Es fanden sich in ihnen so wenig Tuberkelbacillen, — viele Tuberkel enthielten keine, — dass auf weitere Untersuchung verzichtet wurde.

Kan. 20. Grosses, trächtiges Kaninchen, zeigt in den ersten Tagen nach der Injection verminderte Fesslust, erholt sich aber völlig, abortirt am Ende der zweiten Versuchswoche. Am 22. Tage wird eine Niere entfernt.

Anat. Befund: Einige graue miliare Knötchen schimmern durch die Kapsel hindurch; zieht man letztere ab, was leicht und vollständig geschehen kann, so werden noch eine beträchtliche Anzahl von Tuberkeln sichtbar, die hauptsächlich nur in der äussersten Peripherie der Rinde sitzen.

Mikroskopisch: Kan. 20, Niere 22 Tage, Färbung nach Gram-Weigert. Vergrösserung Zeiss B, Oc. 3. Mehrere bereits in beginnender Verkäsung begriffene Tuberkel, in denen noch zu Grunde gehende Glomeruli erkennbar sind. Ein grosser, ovaler, blauer Pilzherd in einem der



Tuberkel; die unmittelbare Umgebung dieses Herdes ist zellarm, die weitere bilden zahlreiche ein- und mehrkernige Leukocyten und vereinzelte Epithelioidzellen. Hommogene Immersion $^1/_{12}$ Oc. 3. Der Herd besteht aus einem dichten Filzwerk von Pilzen, nur die über die Peripherie hinausragenden Individuen endigen als spitze Kolben.

Ein weiterer Schnitt desselben Nierenstückchens nach der Birch-Hirschfeld'schen Aktinomycesfärbung oder nach Weigert behandelt, zeigt bei Immersion einen hochrothen bezw. blauen strahligen Pilzherd mit kleinen und spitzen Kolben, die eine Zone mehrkerniger Leukocyten wallartig umgiebt (vgl. Taf. I, Fig. 1). Tod des Thieres nach 24 Tagen, es hatte bereits in der letzten Zeit ein schwerkranken Eindruck gemacht.

Section: Disseminirte Lungen- und Nierentuberculose, zahlreiche Tuberkel in der Hirnrinde, zahlreiche verkäste Tuberkel in der Submucosa des Dünn- und Dickdarms. Von besonderem Interesse sind in diesem Falle die tuberculösen Veränderungen des Genitalapparates, des Uterus und der Mamma; zahlreiche Tuberkel in Iris und Choroidea; im orbitalen Fettgewebe, um die Thränendrüse und in ihr herum zahlreiche verkäste Partieen und graue und gelbe Tuberkel. Besonders eingehend untersucht wurden: Niere, Mamma, Uterus, Gehirn und Darm.

a) Niere, 24 Tage, Färbung nach Gram-Weigert, Vergrösserung Zeiss B: Ovaler, strahliger Pilzherd, in nächster Umgebung ein Kranz mehrkerniger Leukocyten. Homogene Immersion $^1/_{12}$. Im Centrum des Herdes dunkelblaue Körnchen und Bröckelchen. Von demselben radiär ausstrahlend an den peripheren, ziemlich dicken Enden kolbige Anschwellungen, die an Länge den Durchmesser eines rothen Blutkörperchens etwas übertreffen. In einem der nächstfolgenden, nach Friedrich'scher Methode gefärbten Schnitte sind die centralen Pilze blau, die Kolben roth (s. Taf. I, Fig. 2). Der Stelle der stärksten Kolbenbildung liegen die meisten mehrkernigen Leukocyten an.

b) Mammae, 24 Tage, Färbung nach Ziehl-Neelsen, Vergrösserung Zeiss B. Neben einem grösseren, in Verkäsung begriffenen Tuberkel ein kleinerer, mit länglichem, hochrothem Pilzherd. In der Umgebung desselben zahlreiche ein- und mehrkernige Leukocyten, Epithelioidzellen und eine Riesenzelle mit randständigen Kernen. Homogene Immersion: Dichtes Filzwerk von Pilzen, meist in einer Hauptrichtung liegend, keine strahlige Anordnung, keine Kolben. Einer der nächstfolgenden Schnitte, nach Gram-Weigert gefärbt, zeigt einen strahligen Pilzherd mit schwach gefärbten Kolben, die über die Peripherie des Herdes hinaus in das zerfallende Gewebe der Umgebung hineinragen. In einem anderen Schnitte desselben Mammastückchens finden sich in grossen Epithelioidzellentuberkeln Herde mit langen, am Ende spitzen Strahlen, die rosettenartig angeordnet sind. Die grössten von ihnen enthalten dunkel gefärbtere Partieen. In der Umgebung des Herdes liegen einige rundliche und eckige Krümel und Brocken von derselben violetten Farbe, wie die Pilzstrahlen. Das kleine Centrum des Herdes besteht aus den gleichen Gebilden. Nach der Friedrich'schen Färbemethode lassen sich die Kolben roth färben, doch versagt die Blaufärbung der centralen



Herdpartie. Wiederum an anderen Stellen erscheinen die Herde ganz sternförmig, am besten vergleichbar dem Stern zum rothen Adlerorden (s. Taf. I, Fig. 3); die Strahlen sind sehr lang und dick; im Centrum sind keine Bacillen zu finden. Diese Keulen werden nach der Ziehl-Neelsen'schen Methode nur schwach gefärbt; die Herde erschienen in toto intensiv roth bei Färbung nach Birch-Hirschfeld.

c) Uterus, 24 Tage, Färbung nach Gram-Weigert. In den Tuberkeln des Uterus werden keine Herde, nur einzelne Tuberkelpilze gefunden.

d) Choroidea und Iris, im Wesentlichen die gleichen Befunde wie bei Kan. 18; die Tuberkelzahl reicher und grösser; einige Herde mit strahligem Bau, aber ohne Kolben.

e) Gehirn, enthält reichlich dicht an Capillaren gelegene kleinzellige und verkäste Tuberkel, in einigen, dicht unter der Pia gelegenen, Strahlenpilzherde mit kleinen spitzen Kölbchen, die bei Tuberkelbacillenfärbung ungefärbt erscheinen.

f) Im orbitalen Fettgewebe und der Thränendrüse finden sich zahlreiche verkäste und bereits in Verkäsung begriffene Tuberkel von verschiedener Grösse. In ihnen grosse Strahlenpilzherde von genau der gleichen Form und Eigenschaft, wie die in der Mamma. Einzelne dieser Herde sind partiell verkalkt, so dass nur ein Theil deutliche Strahlung zeigt. Auch hier besteht ein Theil der Herde nur aus langen Kolben und Strahlen ohne Bacillen.

g) Darm. Die submucösen Tuberkel sind zum grossen Theil verkäst und enthalten hauptsächlich in den peripheren Partieen typische Riesenzellen. In mehreren dieser Zellen ausgesprochene Strahlenpilzherde mit spitzen und abgerundeten Kolben.

Kan. 28, op. 12. November. Dem Thier werden 20 Tage nach der intraarteriellen Tuberkelbacilleninjection einige Tuberkel aus der Niere herausgeschnitten. Der Befund stimmt im Wesentlichen mit dem überein, was bei Kaninchen 20 (Niere 28 Tage) beschrieben ist; es finden sich auch hier strahlige Herde mit kleinen Kolben. — Demselben Thier werden am 2. Januar, also 52 Tage nach der Injection, Stüchen der Gehirnrinde und die linke Niere exstirpirt.

a) Gehirnstücke. In einigen Theilen Tuberkel mit zahlreichen Riesenzellen und sehr wenigen Bacillen; in einigen Riesenzellen strahlige Herde mit ziemlich langen Kolben; in anderen Schnitten sind die Strahlenpilzherde von einem Leukocytenwall umgeben.

b) In der Niere sind die Tuberkel stärker verkäst und erheblich grösser, wie nach 20 Tagen. Auch hier sind die Herde reich an grossen Riesenzellen; viele Tuberkel enthalten nur vereinzelt Bacillen, und trotz Untersuchung zahlreicher Serienschnitte werden strahlige Herde nicht gefunden. Nur in zwei Tuberkeln werden, ebenfalls in Riesenzellen gelegene, strahlige Herde mit ziemlich langen Kolben gefunden, die sich auch nach der Friedrich'schen Methode gut färben. Sowohl nach 20 wie nach 52 Tagen wurden sofort bei der Herausnahme der Organstücke Culturen auf Glycerinagar angelegt. Einige Reagensgläser blieben steril, auf anderen entwickelten sich Reinculturen von Tuberkelpilzen.

Kan. 29, op. 30. Nov. Injection in die Carotis; am 2. Januar, also nach 33 Tagen, Stückchen der rechten Niere extirpirt. Befund entspricht im Wesentlichen dem von Kan. 20 (nach 24 Tagen). Die strahligen Herde liegen theils in Riesenzellen, theils von Leukocyten umgeben. Die Kolben deutlich länger als nach 24 Tagen, different färbbar. — Eines unserer Carotisthiere starb 5 Tage nach der Injection an einer Pneumonie; ausgeprägte tuberculöse Veränderungen waren selbstverständlich nach so kurzer Zeit noch nicht zu erwarten. Die Oberfläche der Nieren wies einige grössere und kleine Niereninfarkte auf, die mikroskopische Untersuchung der Niereninfarkte ergab, dass in den verstopften Nierenarterienästen Tuberkelpilzanhäufungen vorhanden waren, die aber weder strahligen Bau noch kolbige Verdickungen zeigten. — Bei einem 9 Tage nach der Injection verstorbenen Thiere waren schon kleine Tuberkel entwickelt, die vereinzelte und in Zellen eingeschlossene Haufen von Tuberkelpilzen enthielten. — Diese Versuche ergaben somit im Wesentlichen eine völlige Bestätigung der Angaben von Friedrich. Namentlich konnten auch in unseren Fällen vor dem 15. Tage keine Strahlenpilzformen entdeckt werden; dass sie, im Gegensatz zu Friedrich, auch nach dem 30. Tage — nämlich 33 bis 52 Tagen — vorhanden waren, beruht vielleicht darauf, dass ich sehr zahlreiche Stellen und viele Serienschnitte untersuchte. Auf einige andere, sich aus unseren Versuchen ergebende wichtige Punkte wird erst weiter unten bei der zusammenhängenden Besprechung aller Versuche eingegangen werden.

II. Versuche mit localer Impfung.

A. Gehirn.

Die Versuche von Babes und Levaditi wurden, wie bereits oben erwähnt ist, in der Weise abgeändert, dass nicht eine Aufschwemmung von Tuberkelpilzcultur verwendet wurde, sondern dass nach Trepanation des Schädels und vorsichtiger Schlitzung der Dura Tuberkelpilzklümpchen, die vorsichtig von Reinculturen abgekratzt waren, mittels ausgeglüther Platinanadel subdural eingebracht wurden. Nach der Einimpfung wurde meistens die Knochenscheibe reponirt, die äussere Haut durch Naht geschlossen. Da der Eingriff bedeutend ungefährlicher war, als die Injectionsmethode, hatten wir, selbst bei jüngeren Thieren, keine Verluste zu beklagen. In den meisten Fällen heilte sogar die Knochenscheibe des Schädels reactionslos wieder ein, in anderen entstanden an der Impfstelle Abscesse, die ihren dicken, käsig-rahmigen Eiter nach aussen entleerten.

Versuchsprotocolle.

Kan. 8. Subdurale Impfung mit Tub. homin. Tod nach 3 Tagen. Durawunde mit wenigen Granulationen bedeckt, geringe Eiterabsonderung. Keine tuberculösen Veränderungen der inneren Organe.

Kan. 8. Gehirn T.-B. hom. 3 Tage, Schnittfärbung nach Ziehl-Neelsen. Mikroskopische Vergrösserung Zeiss B, Oc. 3. Beträchtliche Leukocytenansammlung, die zapfenförmig in das Gehirngewebe hineinragt und sich scharf gegen dasselbe absetzt. Homog. Immersion: In diesem Entzündungsproduct zahlreiche einzelne Tuberkelpilze, auch einige regellose Pilzhaufen ohne strahligen Bau und ohne Kolben.

Kan. 25. Subdurale Impfung mit T.-B. hom. Nr. 5. Tod des Thieres nach 14 Tagen in Folge einer durch andere Versuche bedingten Verletzung. Ausser der in Vernarbung begriffenen Hirnwunde keine tuberculösen Veränderungen anderer Organe.

Kan. 25. Gehirn T.-B. hom. 14 Tage. Färbung nach Gram-Weigert. Mikroskopische Vergrösserung Zeiss B, Oc. 3. Grosser Rundzellentuberkel mit zahlreichen kleineren und grösseren, unregelmässig gestalteten Herden hauptsächlich an der Peripherie des Tuberkels. Einzelne Pilzherde, in Riesenzellen liegend, zeigen schon bei Zeiss C, Oc. 4 deutlich strahligen Bau und Kolben. Homogene Immersion: Der grössere dieser strahligen Herde von einem Ringe mehrkerniger Leukocyten umgeben, dann folgt eine zellarme Zone, darauf wieder Rund- und Epithelioidzellen. Centrum des Pilzherdes blau, einzelne Individuen unterscheidbar. Strahlen ebenfalls blau, klein, schmal und spitz. Die Friedrich'sche Färbung ergiebt keine guten Resultate. Dagegen wird eine ganz hübsche Doppelfärbung mit der Birch-Hirschfeld'schen Methode erzielt, so dass die Bacillen violet, die Kolben roth erscheinen. In einem anderen Schnitt desselben Hirnstückchens mehrere grosse, homogene, hellgraue Schollen von unregelmässig polygonaler Gestalt, einige mit hellviolettem Saum. Homogene Immersion: Der Saum wird gebildet von radiär dem Schollenrande aufsitzenden Tuberkelpilzen, die auch spitz sind. Innerhalb der Schollen weder Pilzgruppen noch einzelne Pilze. In einem der folgenden, nach Birch-Hirschfeld'scher Methode gefärbten Schnitte sind bei einem, dem oben beschriebenen sehr ähnlichen Herde die schmalen Strahlen schwach roth bei dunkelrothem Centrum. Den Strahlenkranz umgiebt ein besonders dichter Ring mehrkerniger Leukocyten. Bei der Section des Thieres wurden sofort Culturen von den Gehirntuberkeln auf Glycerinagar angelegt; sie blieben alle steril.

Kan. 1. Subdurale Impfung von T.-B. hom. mit Cultur Nr. 1. Tödtung nach 16 Tagen. Dura- und Hirnwunde verklebt, geringe Granulationsbildung in derselben. Innere Organe frei von tuberculösen Veränderungen.

Kan. 1. Gehirn T.-B. hom. 16 Tage. Färbung nach Ziehl-Neelsen. Mikroskopische Vergrösserung Zeiss B. Im Granulationsgewebe mit reichlichen mehrkernigen Leukocyten einige rundliche, hochrothe Tuberkelpilz-



herde. Die einzelnen Pilze neben einander in einer Hauptrichtung liegend, wenige radiär vom Herde abstehend mit dunkleren Polkörperchen, dazwischen blassrothe Strahlen, besonders bei geringer Abblendung deutlich hervortretend. Färbt man die Schnitte nach der Gram-Weigert'schen Methode, so sieht man von den Pilzherden längere und kürzere Strahlen, meist spitzkolbig endigend, ausgehen (s. Taf. I, Fig. 4).

Kan. 3. Subdurale Impfung mit T.-B. hom. Cultur Nr. 3. Tödtung nach 17 Tagen. Grössere Granulationsbildung an der Impfstelle. Keine tuberculösen Veränderungen anderer Organe.

Kan. 3. Tuberculöse Gehirngranulation 17 Tage. Färbung nach Gram-Weigert. Mikroskopische Vergrösserung Zeiss B. Hufeisenförmiger Pilzherd in einer Umgebung von in körnigem Zerfall begriffenen Epithelioidzellen, einige derselben, sowie wenige mehrkernige Leukocyten, zeigen noch deutlichere Kernfärbung. Homogene Immersion: Der centrale Theil des Pilzherdes ist durch die Präparation ausgefallen. Die dunkelvioletten Kolben sind gedrungen, ihr peripheres Ende aber mehr keulenförmig abgerundet. Ein anderer Herd desselben Granulationsstückchens aus dem Gehirn, nach der Birch-Hirschfeld'schen Färbung behandelt, zeigt hauptsächlich wieder spitze Kolben neben einigen stumpfen. Die centrale Masse des Herdes besteht aus violetten Krümeln und Brocken, anscheinend zerfallenen Kolben; denn es liegen auch einige noch deutlich an Gestalt und Färbung als zertrümmerte Kolben erkennbare Gebilde dazwischen.

Kan. 7. Subdurale Impfung mit T.-B. hom. Cultur Nr. 3. Tödtung nach 30 Tagen. Keine Verbreitung der Tuberculose in andere Organe.

Kan. 7. Gehirn T.-B. hom. 30 Tage. Färbung nach Ziehl-Neelsen. Mikroskop. Vergrösserung Zeiss B. Grosses Agarstück, mit vielen Tuberkeln durchsetzt und von radiär stehenden Pilzen saumartig eingefasst. Keine Kolbenbildung; daneben vereinzelte grössere und kleinere Pilzherde in einem dichten Haufen mehrkerniger Leukocyten, der das Agarstückchen auf einer Seite begrenzt. Ihre Pilze liegen meist in einer Hauptrichtung, sind hochroth, enthalten theilweise dunklere Polkörperchen und lassen weder strahlige Anordnung, noch kolbige Verdickungen erkennen. Färbt man dagegen Schnitte derselben Serie nach Gram-Weigert, so weisen diese Herde sowohl strahligen Bau auf, als auch sind sie mit dicken kolbigen Anschwellungen versehen, Pilzfäden theilweise segmentirt.

Kan. 6 Subdurale Impfung mit T.-B. hom. Nr. 1. Tödtung nach 38 Tagen. Geringe Eiterung in der Umgebung der Impfwunde. Innere Organe ohne tuberculöse Veränderung.

Kan. 6. Gehirn T.-B. hom. 38 Tage. Färbung nach Ziehl-Neelsen. In einem in Verkäsung begriffenen Tuberkel ein langer, strahliger Pilzherd, umgeben von einem Kranz mehrkerniger Leukocyten. Schon bei schwächerer Vergrösserung, Zeiss B, sieht man von der centralen hochrothen Pilzmasse lange, schwach rothe Strahlen ausgehen, die bei mässiger Abblendung noch deutlicher werden. Homogene Immersion: Die weit in die Umgebung sich erstreckenden Strahlen endigen mit stumpfen, dicken Kolben, centrale Pilz-



masse bröckelig zerfallen. Ein Schnitt derselben Serie, nach Gram-Weigert gefärbt, zeigt bei Vergrösserung Zeiss B an rundem, strahligem Pilzherd dicke, lange Kolben. Homogene Immersion: Herdcentrum mit dunkelvioletten Krümeln erfüllt, von denen die gleichfalls dunkelvioletten Strahlen ausgehen, endigend in meist breiten Kolben, neben einigen spitzeren. Kreisrunde dunkelviolette Scheibchen in der engeren Herdumgebung. Die Mehrzahl dieser Herde ist in Riesenzellen eingeschlossen (Taf. I, Fig. 5) oder dicht von ihnen umgeben (Taf. I, Fig. 6).

Kan. 4a. Subdurale Impfung mit T.-B. hom. Nr. 1. Tod nach 49 Tagen. Abmagerung, grosser Abscess an der Impfstelle. Keine tuberculöse Veränderungen in den übrigen Organen nachweisbar.

Kan. 4a. Gehirn T.-B. hom. 49 Tage. Färbung nach Ziehl-Neelsen. Mikroskopische Vergrösserung Zeiss B. In einer Rundzellenanhäufung sehr unregelmässig gestalteter Pilzherd mit radiären Strahlen. Homog. Immersion: Pilzindividuen schmutzig roth, reichlich gekörnelt, Strahlen schwach blau, kolbig verdickt (s. Taf. I, Fig. 7). Schnitt derselben Serie, nach Gram-Weigert gefärbt, Vergrösserung Zeiss B. Grosser strahliger Herd mit bereits bei dieser Vergrösserung deutlichen Kolben. Im Centrum des Pilzherdes liegen Körner und Bröckel von derselben Färbung, ebenso an einigen Stellen der Peripherie, wo die grössten Kolben offenbar zerfallen sind, denn man sieht ihre Bruchstücke zu dreien und vieren perlschnurartig hinter einander gereiht liegen, und zwar das grösste, entsprechend der stärksten Kolbenverdickung, am weitesten peripherwärts. Schnitt desselben Stückes, nach Friedrich'scher Methode gefärbt. Mikroskop. Vergrösserung Zeiss B. An der Grenze zwischen Dura und einem Rundzellentuberkel grosser hellrother Pilzherd mit strahligem Band. Homogene Immersion: Die langen Keulen sind hellroth, das Centrum des Pilzherdes ebenfalls; es hat nicht die blaue Farbe angenommen, welche bei dieser Methode erwartet wird.

Diese Versuche ergeben also der Hauptsache nach eine vollkommene Bestätigung der Angaben von Babes und Levaditi. Nur in zwei Punkten sind Abweichungen vorhanden. Einmal sind die meisten unserer Herde nicht so gross, wie die Abbildungen von Babes zeigen und der Kranz von Kolben ist ebenfalls häufig kleiner. Der Grund dieses Unterschiedes liegt wahrscheinlich in der abweichenden Versuchstechnik, indem bei unserer Versuchsmethode eine geringere Menge von Tuberkelpilzen eingeführt wurde. Zweitens wurde in meinen Versuchen das Auftreten der Strahlenpilzformen und Kolbenbildungen bereits erheblich früher beobachtet, als nach den Angaben von Babes erwartet werden durfte. Während dieser Autor frühestens nach 4 Wochen ausgeprägte Aktinomycesherde fand, wurden sie von mir schon nach 14 und 16 Tagen beobachtet. Zwei Umstände sind wohl dafür verantwortlich zu machen. Einmal, dass ich zum Nachweis der Herde mich der Weigert'schen Färbung bediente, die am sichersten die Strahlen und Keulen aufdeckt. Zweitens mag die verschiedene Virulenz der Culturen, vielleicht auch die abweichende

Impfungsmethode von Bedeutung sein. Dass die Virulenz der Culturen für die Entstehung der Strahlenpilzherde nicht bedeutungslos ist, geht wohl mit Sicherheit aus unserem Befunde hervor: während bei Benutzung der am wenigsten virulenten Cultur 5 bereits am 14. Tage reichliche und ausgebildete Strahlenpilzherde sich finden und auch bei Verwendung der ebenfalls nicht hoch virulenten Cultur 2 nach 16 Tagen nicht wenige Herde und Kolben vorhanden sind, konnten bei Kaninchen 7, wo zur Impfung die höchst virulente Cultur Nr. 3 benutzt wurde, selbst nach 30 Tagen nur ganz vereinzelte Strahlenpilzherde entdeckt werden. Zahlreiche Stücke und Schnitte wurden zunächst vergeblich untersucht und erst nach vielen Mühen wurden einige charakteristische Herde gefunden.

Nachdem so festgestellt war, dass bei localer Impfung unter die Dura mater die Strahlenpilzherde mit Regelmässigkeit nach circa 2 bis 3 Wochen erscheinen, war es für die Erforschung der Bedeutung und der Bildungsbedingungen dieser eigenthümlichen Formen von Wichtigkeit, zu untersuchen, ob die gleichen Formen sich auch bei localen Einimpfungen in andere Organe ausbildeten. Dabei schien es wünschenswerth, solche Organe auszuwählen und die Impfungen so vorzunehmen, dass eine Weiterverbreitung in grosse Lymphräume oder die Blutbahn nach Möglichkeit ausgeschlossen wäre. Es wurden deshalb nur folgende Organe zur Einimpfung benutzt: Niere, Leber, Hoden und Mamma.

B. Impfung in die Niere.

Die Impfungen wurden so vorgenommen, dass die Niere extraperitoneal hervorgeholt, darauf die Kapsel eingeschnitten und ein kleiner lappenförmiger Schnitt in die Nierensubstanz gelegt wurde; nachdem die Blutung von selbst gestanden, wurde in die Wunde eine Platinanadel einer T.-B.-Cultur vorsichtig und möglichst tief eingebracht; auf diese Weise gelang es meist, eine Verbreitung der Tuberkelpilze im umliegenden Gewebe zu vermeiden.

Kan. 14a. Freilegung beider Nieren. Nach Einreissen der Kapsel wird mittels Scheere eine kleine Lappenwunde in die Nierenrinde gesetzt und mit ausgeglühter Platinnadel abgekratzte Pilzklümpchen von Tuberkelpilzcultur Nr. 3 eingebracht. Das aus der Wunde austretende Blut gerinnt und hält die Pilze in derselben zurück. Vorsichtiges Versenken der Nieren, Muskelnaht, Hautnaht. Das Thier bleibt dem Anscheine nach durch den Eingriff unbehelligt. Entfernung einer Niere nach 14 Tagen. Entsprechend der Impfstelle kleine eingezogene grauweisse Knötchen.

Kan. 14a. Niere T.-B. hom. Färbung nach Gram-Weigert. Mikroskopische Vergrösserung Zeiss B. In einem Tuberkel rundlicher, strahliger



Tuberkelpilzherd mit gleichmässig gekörneltem, schwach gelben Centrum. Seine unmittelbare Umgebung bilden einige epithelioide Zellen und wenige mehrkernige Leukocyten. Auf eine zellfreie Zone folgt dann ein Netz verzweigter grosser Zellen. Der Tuberkel ist gegen das gesunde Nierengewebe durch ausgedehnte Hämorrhagieen abgegrenzt. Homogene Immersion: Die blauen Strahlen des Pilzherdes sind in ihrer Mehrzahl spitz, nur einige endigen deutlich in kolbigen Verdickungen, besonders die beiden längsten, deren über die Peripherie hinausragendes fadenartiges Stück stark gebogen verläuft (s. Taf. I, Fig. 8).

Färbt man die Schnitte nach der Birch-Hirschfeld'schen Methode, so werden die kolbigen Strahlen roth. Dieselben Herde, nach Ziehl-Neelsen gefärbt, zeigen weder Strahlen noch Kolben, es liegen vielmehr die rothen Pilze wieder meist in einer Hauptrichtung. Verdrängt man diese Färbung durch die Gram-Weigert'sche, so werden die Pilze dunkelviolet, und in der Peripherie der Herde sieht man wieder einige radiär angeordnete, dunkelviolette, kolbig verdickte Individuen.

Das Thier erliegt der Nierenexstirpation nach 2 Tagen. An den übrigen Organen sind tuberculöse Veränderungen nicht nachweisbar.

Kan. 14b. Niere T.-B. hom. 18 Tage. Färbung nach Ziehl-Neelsen. Mikroskopische Vergrösserung Zeiss B. Einige Riesenzellentuberkel, in den Riesenzellen rothe Herde. Homogene Immersion: Die Herde in den Riesenzellen bestehen aus regellosen Pilzklümpchen, die einzelnen Individuen sattroth mit Polkörperchen und Körnelung. Zahlreiche isolirte Pilze in den Riesenzellen verstreut. Keine strahlige Anordnung, keine Kolben.

Kan. 30. Impfung in die linke Niere, wie im vorigen Versuch. — Nach 14 Tagen wird ein Stückchen der Impfstelle herausgeschnitten, ein anderer Theil zurückgelassen und die Niere wieder reponirt. — In den tuberculösen Herden finden sich mehrere z. Th. von Riesenzellen eingeschlossene Strahlenpilzherde, deren Kolben schon bei Tuberkelfärbung als ganz matt blau gefärbte Gebilde hervortreten. — Die Kolben sind aber noch ziemlich kurz. Nach 30 Tagen wird der Rest herausgeschnitten; strahlige Herde sind spärlicher zu finden, die Länge der Kolben übertrifft aber die der Keulen vom 14. Tage um mehr als das Doppelte.

C. Impfungen in die Leber.

Zu den Impfungen in die Leber wurde eine kleine penetrirende Bauchwunde unterhalb der Processus ensiformis des Brustbeines in der Medianlinie angelegt, ein Stück Leberlappen herausgezogen, derselbe eingeschnitten und in die Schnittwunde mit ausgeglühter Platinnadel das Tuberkelpilzmaterial eingebracht, wobei auch hier nach Möglichkeit dafür gesorgt wird, dass eine Weiterverbreitung nicht geschehen kann.



Kan. 19. Impfung mit T.-B. hom. Nr. 3 in Leber. Tödtung des Thieres am 16. Tage. An der Impfstelle ein über linsengrosses, etwas eingezogenes, käsiges Knötchen, in dessen Umgebung noch zwei etwas kleinere Knötchen vorhanden sind. In den übrigen Organen tuberculöse Veränderungen nicht nachweisbar, auch die Bauchhöhle frei davon.

Kan. 19. Leber Nr. 3. 16 Tage. Färbung nach Ziehl-Neelsen. Mikroskopische Vergrösserung Zeiss B. Zahlreiche runde und längliche hochrothe Pilzherde in kleineren und grösseren Rundzellentuberkeln. Homog. Immersion: Den Herden fehlt ausgesprochen strahliger Bau, doch sind einige peripher gelegene Pilze mit kleinen Kolben versehen. In den Tuberkeln zerstreut liegen viele einzelne, intensiv rothe Tuberkelpilze mit dunkleren Polkörperchen. Dichte Leukocytenkränze umgeben die Herde. Bei einem der folgenden, nach Gram-Weigert'scher Methode gefärbten Schnitte, mikroskopische Vergrösserung Zeiss B, findet sich ein rundlicher Pilzherd in Epithelioidtuberkel. Andeutung eines strahligen Baues, einige dunkelviolette, radiär zum Herde stehende Pilze in deutlichen kleinen spitzen Strahlen endigend; in einem anderen, bereits stark verkästen Tuberkel findet sich ein ausschliesslich aus ziemlich dicken Kolben bestehender Herd, der sich nach der Ziehl-Neelsen'schen Methode nur schwach roth färbt.

In zwei anderen Fällen von Tuberkelpilzimpfungen in die Leber liessen sich nach 24 und nach 40 Tagen in den Tuberkeln weder strahlige Herde noch einzelne Kolben auffinden; dagegen waren reichlich unregelmässig gestaltete, z. Th. sehr grosse Tuberkelpilzconglomerate vorhanden. Die Tuberkel z. Th. stark verkäst. Kan. 17, das bereits 8 Tage nach der Impfung stirbt, weist wohl gut gefärbte Herde, deren Pilze in einer Hauptrichtung liegen, aber keine Strahlen und keine Kolben in der Leber auf.

D. Impfungen in den Hoden.

Nach Freilegung des Hodens und Abstreifung der Tunicae wurde in eine Schnittwunde des Parenchyms mit ausgeglühter Platinnadel das Infectionsmaterial eingebracht; darauf die Hodenhäute und das Scrotum durch Naht geschlossen. Die Thiere vertrugen den Eingriff ohne auffällige Störungen ihres Allgemeinbefindens.

Kan. 16. Impfung von T.-B. hom. in Hoden; bereits nach 11 Tagen, weil es noch zu anderen Versuchen benutzt war, die eine Unterbrechung erforderten, getödtet. Impfstelle in Vernarbung begriffen und mit der Umgebung verklebt. Die Tuberkel bestehen zum grossen Theil aus Epithelioidzellen; Riesenzellen sind spärlich vorhanden. Einzelne Pilzherde zeigen bereits den Beginn strahliger Anordnung, keine Keulenbildung.

Kan. 2. Impfung mit T.-B. in Hoden. Tödtung nach 18 Tagen. Kleine eingezogene, weissliche und gelbe Herde an der Impfstelle. In anderen Organen tuberculöse Veränderungen nicht nachweisbar.



Kan. 2. T.-B. hom. in Hoden. 18 Tage. Färbung nach Gram-Weigert. Mikroskop. Vergrösserung Zeiss B. In den Randpartieen grosser Tuberkel zahlreiche verschieden grosse Herde ohne strahlige Anordnung der Pilze in ihrer Peripherie. Homogene Immersion: Die dunkelvioletten Pilze liegen vielfach einzeln in den Tuberkeln zerstreut; einige, die Peripherie der Herde überragende Individuen sind kolbig verdickt.

Kan. 43. T.-B. hom. Nr. 3 in Hoden. Exstirpation desselben nach 69 Tagen. Impfstelle vernarbt.

Kan. 43. Hoden T.-B. hom. Nr. 3. 69 Tage. Färbung nach Ziehl-Neelsen. Mikroskopische Vergrösserung Zeiss B. Die Tuberkel sind bereits zum Theil in Verkalkung begriffen, zum Theil stark verkäst. In der Peripherie der verkästen Partieen finden sich zahlreiche, zum Theil recht grosse Riesenzellen, die vereinzelt Tuberkelpilze enthalten, welche in den verkästen Theilen ganz vermisst werden.

E. Impfung in die Mamma.

Kan. 50. Impfung in die Mamma. Nach 25 Tagen wurden die verkästen Knoten an der Impfstelle herausgeschnitten. Die Tuberkel z. Th. verkäst, andere ziemlich reich an grossen Riesenzellen, in denen sich vereinzelte Tuberkelpilze und Strahlenpilzherde finden. Man kann hier zwei Arten von Herden unterscheiden: 1. solche, in denen die Hauptmasse aus Stäbchen besteht, von denen nur ziemlich kleine Keulen ausstrahlen; 2. solche, die ausschliesslich aus langen und dicken Keulen bestehen. Die letzteren färben sich noch leicht durch Carbolsäurefuchsin.

Fassen wir die Ergebnisse aller dieser Versuche zusammen, so ergiebt sich Folgendes: In allen Organen, in denen nach Einimpfung von Tuberkelpilzen die Tuberculose localisirt bleibt, finden sich während eines Zeitraumes von 14 bis 50 Tagen die Tuberkelpilze theils in Form von Stäbchen, theils in Form der Aktinomyces ähnlichen Herde. Die Ausbildung dieser Herde ist weder der Grösse, noch der Form nach in allen Organen gleichmässig, ebenso wenig tritt sie in allen Organen mit gleicher Regelmässigkeit und Sicherheit auf; am wenigsten sicher und am spärlichsten ausgebildet erscheinen sie in Leber und Hoden, während sie mit ziemlich gleicher Promptheit in Gehirn und Niere aufzutreten scheinen.

Im Allgemeinen weichen also unsere Angaben von den von Babes und Friedrich, wie bereits oben erwähnt, etwas ab, wobei zu berücksichtigen ist, dass die von Letzterem aufgestellten Zeitwerthe sich nur auf „Carotisthiere“ beziehen. Dass aber auch für diese Versuchsanordnung die Friedrich'schen Zeitangaben nicht für alle Fälle zutreffen, zeigen unsere Versuche 28 und 29. Selbstverständlich ist während dieses Zeitraumes von ca. 40 Tagen das Aussehen der Herde ihrem Alter entsprechend ein verschiedenes. Vor dem 14. Tage zeigen die Pilzherde keine

Abweichungen von den bekannten Bildern, die man an Herden in tuberculös erkranktem Gewebe sehen kann: kleine regellose Pilzhäufchen, die allmählich zu grösseren Herden auswachsen, wobei dann die einzelnen Individuen in einer Hauptrichtung liegen. Man hat diese Anordnung treffend mit einem Schwarm von Fischchen verglichen, die in einer Richtung schwimmen. Jenseits des 13. Tages findet man nun als erste charakteristische Veränderung einzelne Pilze an der Peripherie dieser Herde von der Lagerungsrichtung der übrigen abweichen; sie stellen sich senkrecht zur Hauptachse des Herdes und können schon an ihrem peripheren Ende kolbig verdickt sein, auch überragen sie die anderen an Länge. Später werden sie fadenförmig und es sitzt ein deutlicher Strahlenkranz schmaler Kolben der Peripherie des Pilzherdes auf. Schliesslich besteht dieser Strahlenkranz aus breiten Kolben und hat er damit seine grösste Ausdehnung erreicht. Endlich finden sich auch bereits gleichzeitig mit dem Auftreten der eben erwähnten Herde strahlige Gebilde, die ausschliesslich aus Kolben bestehen.

Auch das färberische und optische Verhalten der Herde zeigt manche Eigenthümlichkeiten. Benutzt wurde die Ziehl-Neelsen'sche Tuberkelpilzfärbung, die Pilzfärbung nach Gram-Weigert, die Friedrich'sche Doppelfärbung und die Birch-Hirschfeld'sche Färbung für Aktinomycespilze. Die einen Herde zeigen schon bei der Färbung nach Ziehl-Neelsen strahlenpilzähnliche Bildung, bei anderen erzielt man mit derselben nur das Bild der Infiltrationsherde (Pilze eine Hauptrichtung innehaltend), während erst die Gram-Weigert'sche Färbung und Entfärbung mit Anilinölxylol die Kolbenbildung sichtbar macht, so zwar, dass Herdcentrum und Kolben gleichfarbig, freilich nicht immer gleich nüancirt, sind. Wir erzielten mit dieser Methode immer die besten, schnellsten und sichersten Resultate. Es liesse sich ja einwerfen, dass ein nach Ziehl-Neelsen strahlenlos erscheinender Herd wirklich keine Strahlen besessen hätte, dass aber der nach Gram-Weigert'scher Methode gefärbte eben ein strahliger war. Um diesem Einwurf von vornherein zu begegnen, färbten wir Schnitte zunächst nach Ziehl-Neelsen, ohne Kolben wahrnehmen zu können, verdrängten darauf diese erste Färbung desselben Schnittes durch Gram-Weigert'sche Färbung und konnten dann an den vorher kolbenlosen Herden selbst grosse Kolben sichtbar machen. Dieser Färbungswechsel wurde an zahlreichen Präparaten immer mit gleichem Erfolge ausgeführt. Von besonderem Interesse ist ferner die Thatsache, dass bei Kan. 1 Gehin 16 Tage und Kan. 6 Gehirn 38 Tage auch die Keulen noch die Ziehl-Neelsen'sche Färbung annahmen, eine wohl beachtenswerthe Eigenthümlichkeit, die ihre enge Zugehörigkeit zu den Tuberkelbacillen beweist.

Bei Anwendung der Birch-Hirschfeld'schen Doppelfärbung verhielten sich die Kolben der verschiedenen Fälle ebenfalls verschieden; bald erschienen sie intensiv roth, bald mehr violetroth (Mischfarbe von Carbolsäurefuchsin und Anilin gentianaviolett), mitunter kam es auch vor, dass wenigstens ein Theil der Strahlen eine schmutziggelbe Farbe (Pikrinsäurewirkung) annahm. — Die Doppelfärbung nach Friedrich gelang, wie bereits aus der Beschreibung der einzelnen Fälle hervorgeht, nur in einer Minderzahl von Fällen, wobei die Kolben stets intensiv roth erschienen. Vermuthlich ist die Zusammensetzung meiner Flüssigkeiten oder mangelhafte Uebung meinerseits an diesem Resultate Schuld gewesen; da aber meine Zeit beschränkt war und die Weigert'sche und Birch-Hirschfeld'sche Methode durchaus sichere Resultate geben, hatte es für mich keinen Zweck, mich auf die Friedrich'sche Methode besonders einzuüben. — Während somit aus unseren Angaben hervorzugehen scheint, dass die Keulen, ähnlich wie die des Aktinomycespilzes, eine besondere Affinität zu sauern Farbstoffen besitzen, zeigen wieder andere Beobachtungen, dass sie auch basische Farbstoffe annehmen können. Schon Babes erwähnte, dass die Kolben bei Färbung mit Anilinwasserfuchsin und Methylenblau schwach blau erscheinen und bei Kaninchen 4a konnte auch ich bei Färbung nach Ziehl-Neelsen eine deutliche, wenn auch nicht sehr intensive Blaufärbung der Kolben erzielen. — Es kann also auch in diesem Punkte kein ganz einheitliches Verhalten der Keulen festgestellt werden.

Was ihr optisches Verhalten anbetrifft, so stimmen sie insoweit mit Aktinomyceskolben überein, dass sie, in ungefärbten Präparaten und in Wasser untersucht, stark lichtbrechend erscheinen, sobald sie eine erhebliche Grösse erreicht haben. Die beginnenden Kolben können dagegen nicht mit Sicherheit ohne Färbung erkannt werden. Wie erheblich das Lichtbrechungsvermögen der Keulen sein kann, geht auch daraus hervor, dass sie in einigen Fällen (s. oben) sogar noch im aufgehellten Präparat bei mässiger Abblendung deutlich als ungefärbte Gebilde hervortraten. — Ueber ihr mikrochemisches Verhalten kann nur so viel angegeben werden, dass sie unlöslich in Wasser, Alkohol, starken Alkalien und Säuren sind, also auch in diesem Punkte mit Aktinomyceskolben übereinstimmen. Bevor ich nun auf Grund unserer Versuchsergebnisse auf die oben aufgeworfenen Fragen nach Bedeutung und Bildungsweise der Strahlenpilzherde eingehe, will ich noch kurz zwei Fragen erledigen. — Die eine, welche von mir nur zu bearbeiten begonnen wurde und die nach meinem Abgang von Rostock durch Herrn Prof. Lubarsch selbst fortgeführt worden ist, ist die, ob auch bei den dem Tuberkelpilz nahe verwandten Arten ähnliche Bildungen vorkommen. Es musste hier vor Allem der



Pilz der Vogeltuberculose in Betracht gezogen werden, von dem Hayo Bruns (4) in seinem Beitrag zur Pleomorphie der Tuberkelbacillen[1]) ausgeführt hat, dass er die bei 5 bis 6 Monate alten Culturen von T.-B. hom. gefundenen Verzweigungen, Fäden und Kolben auch bei gleichalterigen Culturen von Bacillen der Vogeltuberculose angetroffen habe, nur wären Fäden und Kolben bei letzteren zarter gewesen. Hierdurch wurde unsere Aufmerksamkeit zunächst auf den Erreger der Vogeltuberculose gelenkt.

In der oben geschilderten Weise wurden an einer Anzahl von Kaninchen Impfungen mit T.-B. av. in Dura und Nieren vorgenommen, an einigen anderen Injectionsversuche in die Carotis nach Friedrich.

Versuchsprotocolle.

Kan. 15. Impfung in Niere mit T.-B. av. Tödtung nach 15 Tagen. Kleine, weissliche eingesunkene Herde an der Impfstelle. Die übrigen Organe ohne tuberculöse Veränderungen.

Kan. 15. Niere. T-B. av., 15 Tage, Färbung nach Ziehl-Neelsen. Mikroskopische Vergrösserung Zeiss B, Oc. 3. Zahlreiche, zu Grunde gehende Glomeruli, mehrere in Verkäsung begriffene Rundzellentuberkel mit spärlichen Riesenzellen. In einem grossen verkästen Bezirke zahlreiche kleine Tuberkelpilzhäufchen und einzelne Pilze, die bei Immersion gekörnte Structur zeigen. Keine strahlenpilzartigen Bildungen, keine Kolben. Ein anderer Schnitt desselben grossen Tuberkels, nach Gram-Weigert'scher Methode gefärbt, zeigt ebenfalls die ausgesprochene Körnelung der Pilze. Auch bei dieser Färbung sind weder strahlige Anordnungen, noch Spuren von Kolben zu entdecken.

Kan. 16. Impfung mit T.-B. av. in Niere. Tödtung nach 17 Tagen. Kleine, gelblich-weisse, eingezogene Narbe an der Impfstelle. In anderen Organen keine tuberculösen Veränderungen.

Kan. 16. Niere. T.-B. av., 17 Tage, Färbung nach Ziehl-Neelsen. Mikroskopische Vergrösserung Zeiss B. Grosser verkäsender Riesenzellentuberkel. Keine Pilzherde, auch keine regellosen Häufchen. Homogene Immersion: Zahlreiche einzelne gekörnelte Tuberkelpilze durch den ganzen Tuberkel verstreut, in den Riesenzellen hauptsächlich radiär angeordnet in einem mit der Kernzone der Riesenzellen concentrischen Kranze.

Kan. 10. Subdurale Impfung mit T.-B. av. Tödtung nach 20 Tagen. Hirnwunde leicht granulirt, geringe Secretion. In anderen Organen Tuberculose nicht nachweisbar.

Kan. 10. Gehirn. T.-B. av., 20 Tage, Färbung nach Ziehl-Neelsen. Mikroskopische Vergrösserung Zeiss B. Grosser verkäsender Tuberkel, mehrere ausgedehnte Hämorrhagieen. Viele kleine, von denen einige in-

[1] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XVII.



mitten der Hämorrhagieen liegen, und mehrere grosse intensiv rothe Herde. Homogene Immersion: Die einzelnen Pilze sowohl, als auch die in Haufen angeordneten fallen durch ihre Länge und gleichmässig sattrothe Farbe auf. Umgeben von einer dichten Leukocytenzone ein grosser, ovaler Herd mit Andeutung eines Strahlenkranzes in seiner Peripherie. Einzelne Pilze desselben kolbig verdickt, doch sind diese Anschwellungen schmaler als die Kolben bei den Pilzen der Tuberculose des Menschen, ein anderer Herd zeigt ausgesprochenere strahlige Anordnung und grosse Kolben.

Kan. 23. Impfung mit T.-B. av. in Niere und Gehirn. Nach 91 Tagen wurden die Gehirnimpfstelle und die tuberculösen Theile der Niere herausgeschnitten. Nieren und Hirnwunde vernarbt, tuberculöse Veränderungen in anderen Organen nicht nachweisbar. Bei der mikroskopischen Untersuchung waren in der Niere in den grossen, stark verkästen und an Riesenzellen reichen Tuberkeln nur noch ganz vereinzelt Tuberkelbacillen und verkalkte Herde aufzufinden. Im Gehirn waren noch reichlicher Tuberkelpilze vorhanden, die zum Theil auch in kleinen Gruppen meist in Zellen lagen. In grossen Riesenzellen fanden sich ausserdem noch zahlreiche kleine Kügelchen und Bröckel, die noch die Tuberkelbacillen-Färbung annahmen; in einer Riesenzelle wurde auch noch ein ausschliesslich aus ziemlich dicken Kolben bestehender Herd gefunden. — Das Kaninchen, das noch zu weiteren Versuchen benutzt wurde, wurde 152 Tage nach der ersten Operation getödtet; es fanden sich auch jetzt noch an der Operationsstelle im Gehirn käsige Granulationen, die mikroskopisch aus zahlreichen verkalkten und verkästen Tuberkeln mit vielen Riesenzellen bestanden. Tuberkelpilze werden nur noch nach vielem Suchen ganz vereinzelt gefunden; strahlige Herde fanden sich nicht mehr.

Kan. 13. Injection von T.-B. av. in Carotis. Tod nach 8 Tagen an Entkräftung. Kleine, frische Nierentuberkel und kleine, peribronchitische Tuberkel der Lungen. In den übrigen Organen sind grössere tuberculöse Veränderungen nicht aufweisbar.

Kan. 13. Niere. T.-B. av., 8 Tage. Färbung nach Ziehl-Neelsen. Mikroskopische Vergrösserung Zeiss B. In mehreren Rundzellen Tuberkeln mit spärlichen Riesenzellen, in einer der letzteren zwei Häufchen und einige vereinzelte Tuberkelpilze sichtbar, die auch bei Immersionsvergrösserung ausser gleichmässiger hochrother Färbung nichts Besonderes bieten.

Kan. 13. Lunge. Färbung nach Ziehl-Neelsen. Mikroskopische Vergrösserung Zeiss B. Hauptsächlich in der Umgebung von Bronchiolis Tuberkel aus Rund- und Epithelioidzellen bestehend. Mit Immersionsvergrösserung sind nur in den Tuberkeln zerstreute spärliche Pilze, theils einzeln, theils in kleinen Gruppen zu vieren und fünfen, aber keine Herde aufzufinden.

Kan. 29a. Impfung mit T.-B. av. unter die Dura. Entfernung der Impfstelle nach 20 Tagen. Bei der mikroskopischen Untersuchung finden

sich einige wenige strahlenpilzähnliche Herde mit sehr schlecht färbbaren, kleinen Kolben.

Kan. 42. Subdurale Impfung mit T.-B. av., käsige Granulationen nach 28 Tagen herausgenommen. Mehrere grössere strahlige Herde mit dicken Keulen, die aber nach der Weigert'schen Methode schwer färbbar sind und am besten erst nach der Methode von Birch-Hirschfeld hervortreten (s. Taf. I, Fig. 9).

Unsere Versuche mit den Pilzen der Vogeltuberculose sind in geringerer Anzahl angestellt; immerhin ist es von grosser Bedeutung, dass wir wenigstens in vier Fällen bei Kan. 10 Gehirn 20 Tage, Kan. 23, 29a und 42 kolbige Verdickungen einzelner Pilze und deutlichen strahligen Bau verschiedener Herde bei Ziehl-Neelsen'scher Färbung gefunden haben. Es erinnern unsere Befunde am meisten an die bei Kan. 25 und 1 (Resultate nach 14 bis 16 Tagen). Dass unsere Ausbeute verhältnissmässig eine spärlichere war, als bei den Experimenten mit T.-B. hom., dürfte wohl vor Allem darin seinen Grund haben, dass wir die Versuche nicht genügend variiren konnten. Es kam auch zunächst nicht darauf an, festzustellen, unter welchen Bedingungen sich auch bei den Pilzen der Vogeltuberculose die Strahlenpilzherde bilden, sondern überhaupt nur ihr Vorkommen nachzuweisen. Es war meine Absicht, auch noch andere Streptothrixarten in gleicher Weise zu Versuchen heranzuziehen. Ich musste sie aber aus Zeitmangel abbrechen und will hier nur einen Versuch noch erwähnen.

Ueberraschend war nämlich der Erfolg einer subduralen Impfung mit Streptothrix-Eppinger beim Kaninchen.

Es wurde Pilzmaterial einer virulenten Cultur Streptothrix-Eppinger einem Kaninchen in der bekannten Weise unter die Dura gebracht. Das Thier wurde im besten Wohlbefinden nach 17 Tagen getödtet. Impfwunde in Granulation begriffen, mässige Eiterabsonderung. Die übrigen Organe zeigten keine Spuren einer krankhaften Veränderung.

Versuchsprotocoll.

Kan. 9. Gehirngranulation. Streptothrix-Eppinger 17 Tage. Färbung nach Gram-Weigert. Mikroskopische Vergrösserung: Zeiss B. Am Rande einer ausgedehnten Granulation zwei kleine und ein grösserer dunkelvioletter Herd von strahlenpilzähnlichem Bau. Homogene Immersion: Die Pilzfäden des grösseren Herdes, theilweise segmentiert, tragen breite Kolben, von denen etliche bereits in dunkelviolette Scheiben und Bröckel zerfallen sind. Einer der folgenden Schnitte, nach Birch-Hirschfeld'scher Methode behandelt, weist in strahligen Herden ebenfalls lange, breite, kolbige Strahlen auf, von denen etliche durch einen dunkler gefärbten



achsialen Faden ausgezeichnet sind. Die Mehrzahl der Pilze ist in Zerfall begriffen. Die Herde liegen sämmtlich in grossen vielkernigen Riesenzellen (s. Taf. I, Fig. 10). In einem anderen Präparat liegt ein grosser kreisrunder strahliger Herd, umgeben von einer Zone einkerniger Leukocyten, die auf der Seite der grössten und intensiv gefärbten Strahlen besonders dicht ist. Auf der gegenüber liegenden Hälfte, wo die Pilzstrahlen nur noch wenig gefärbt und schon zum grössten Theil zu Grunde gegangen sind, sind auch die Kerne der Leukocyten bereits zerbröckelt. Bei Immersionsvergrösserung bieten die Pilze dieselben Eigenthümlichkeiten, wie die des vorhergehenden Schnittes. Bei diesem Herde gelingt die Doppelfärbung nach Birch-Hirschfeld besonders gut, so dass die Pilzfäden dunkelblau, die Kolben intensiv roth erscheinen.

Die zweite Frage, die wir noch berühren müssen, ist im Wesentlichen angeregt durch eine von Prof. Bostroem aufgeworfene Controverse.

Als auf der Versammlung der deutschen pathologischen Gesellschaft in Düsseldorf im September 1898 Herr Prof. Lubarsch einige Präparate unserer Versuchsreihen vorlegte und daran einige Ausführungen über die Bedeutung und Entstehungsweise solcher Pseudoaktinomycesherde knüpfte. machte Herr Prof. Bostroem den Einwand, dass es nicht bewiesen sei, dass die bei Impfung mit Tuberkelbacillen auftretenden Strahlenpilzherde wirklich von den verimpften Tuberkelbacillen ausgingen; es erschiene ihm sowohl für die Präparate von Babes und Levaditi, wie für die von Friedrich und von Lubarsch am wahrscheinlichsten, dass die Strahlenpilzherde nicht von den Tuberkelbacillen, sondern von Schimmelpilzen herstammten, die bei der Injection unbeabsichtigter Weise mit übertragen worden seien. Zur Unterstützung dieser Ansicht führte Bostroem im Wesentlichen Folgendes an: 1. Bestände ein Theil der von Lubarsch demonstrirten Herde ausschliesslich aus kolbig angeschwollenen Strahlen ohne bacillärem Centrum. Schon daraus ginge hervor, dass die Kolben „nichts mit den Tuberkelbacillen zu thun hätten". 2. Die in Tuberkelbacillenculturen bisher beobachteten Keulen verhielten sich färberisch wie Tuberkelbacillen und nicht metachromatisch, wie die im Gewebe gefundenen. 3. Der von Friedrich angeführte Umstand, dass die Kaninchen bei intraarterieller Injection von mehr als 0.5 ccm Culturaufschwemmung zu Grunde gingen, spräche für eine Verunreinigung durch pathogene Schimmelpilze; denn von Tuberkelbacillenreinculturen könne man viel grössere Mengen. 10 ccm und mehr einspritzen, ohne sofortigen Tod der Thiere herbeizuführen. Auch wäre es ihm — Bostroem — bei Nachprüfung von Friedrich's Versuchen nicht gelungen, Aktinomycesformen zu erhalten. 4. Es fänden sich neben den Strahlenpilzherden in Präparaten von Friedrich und Lubarsch auch zahlreiche rundliche Gebilde, die ganz



den Eindruck von zu Grunde gehenden Schimmelpilzsporen machten. 5. Stimmten nicht wenige Herde durchaus mit den Aktinomycesherden überein, wie sie bei intravenöser Einspritzung geringer Mengen pathogener Schimmelpilze in Lunge und Niere von Kaninchen auftreten, wie das zuerst Lichtheim und Ribbert beschrieben haben. 6. Wäre auch der Zeitraum, in dem die Strahlenpilzformen nach Injection von Tuberkelbacillen auftreten und ihr plötzliches, spurloses Verschwinden mit dem übereinstimmend, was beim Untergang pathogener Schimmelpilze im Kaninchenkörper beobachtet ist. —

Obgleich Prof. Lubarsch sofort diese Einwände zu widerlegen versuchte,[1] so will ich doch hier noch ausführlicher auf sie eingehen.

Zunächst hat es ja keine sehr grosse Wahrscheinlichkeit für sich, dass verschiedenen, mit der bakteriologischen Technik so völlig vertrauten Forschern, wie Babes, Friedrich und Lubarsch, an ganz verschiedenen Orten stets die gleiche pathogene Schimmelpilzart als verunreinigendes Agens entgegentreten sollte. Ferner ist die Gefahr einer Verunreinigung, wenn man sie bei der Versuchsanordnung von Babes und Friedrich (Injectionsmethode) auch vielleicht zugestehen kann, bei der von uns in den Versuchen mit localer Einimpfung angewandten Technik (Entnahme und Impfung mit der Platinnadel) äusserst gering. Die Annahme, dass die Culturen, von denen abgeimpft wurde, schon unrein gewesen, wird aber dadurch widerlegt, dass sie noch Monate lang nach Anstellung der Versuche sich bei der Untersuchung als völlig rein erwiesen. Endlich ist durch Versuch 25, 28 und 30, wo von den tuberculösen Organen, welche Strahlenpilzherde enthielten, Culturen auf Glycerinagar angelegt wurden, der directe Nachweis geliefert, dass diese Theile frei von Schimmelpilzen waren — man müsste also schon annehmen, dass die verunreinigenden pathogenen Schimmelpilze wieder zu Grunde gegangen wären. Trotzdem somit die Voraussetzungen der Bostroem'schen Einwände widerlegt sind, scheint es nicht überflüssig, auf alle einzelnen Punkte noch etwas näher einzugehen. Beginnen wir mit Punkt 5, so müssen wir zugeben, dass zwischen den von Ribbert beschriebenen Aktinomycesherden der pathogenen Aspergillusarten und unseren Herden eine erhebliche Aehnlichkeit besteht, und ebenso wenig können wir ad 1 leugnen, dass die nur aus Keulen bestehenden sternförmigen Herde zunächst kaum in den Verdacht kommen könnten, von T.-B. abzustammen. Gerade deswegen erschien es erwünscht, auch noch durch den Thierversuch zu prüfen, wie sich gemeinschaftlich mit Tuberkelbacillen eingeführte pathogene Schimmelpilze im Kaninchenkörper verhalten. Ich sagte mir, dass, die Richtigkeit

[1] Vgl. *Verhandlungen der Gesellschaft deutscher Naturf. u. Aerzte.* Leipzig 1899. Theil II. 2. Hälfte. S. 29.



der Bostroem'schen Hypothese zugegeben, bei gemeinschaftlicher, absichtlicher Uebertragung von Schimmelpilzen und Tuberkelbacillen die Strahlenpilzherde auch in den Fällen in grösserer Menge auftreten müssten, in denen wir bisher die Herde so gut wie völlig vermisst hatten. Deswegen wurden hauptsächlich die Pilze der Vogeltuberculose gemeinsam mit Schimmelpilzen übertragen. Die Versuche wurden in der Weise angestellt, dass zunächst grössere Mengen von Tuberkelbacillen in steriler NaCl-Lösung zerrieben und ihnen dann spurenweise Culturmaterial von Aspergillus niger und fumigatus, Mucor corymbifer und rhizopodiformis zugefügt wurde. Durch mikroskopische Untersuchung überzeugte ich mich dann von der annähernd gleichartigen Vertheilung der Pilzelemente in der Kochsalzlösung. Nur einige Versuche seien hier als Beispiel kurz angeführt.

Versuchsprotocolle.

Kan. 26. Impfung mit einem Gemisch von T.-B. hom. und Aspergillus niger in Gehirn und Niere. Nach 14 Tagen wird die Impfstelle im Gehirn extirpirt, das Thier stirbt am folgenden Tage. Geringfügige Granulation der Hirnwunde; in den übrigen Organen werden krankhafte Veränderungen nicht gefunden.

Kan. 26. Gehirn. Gemisch von T.-B. hom. und Aspergillus niger, 14 Tage. Färbung nach Birch-Hirchfeld. Mikroskopische Vergrösserung Zeiss B. Im Granulationsgewebe ein grosser länglicher Herd mit Andeutung von Strahlenbildung, viele ein- und mehrkernige Leukocyten in seiner Umgebung. Homogene Immersion. Die Pilze des Herdes sind gleichmässig dunkelroth, an einzelnen sind sehr zarte Kölbchen sichtbar, neben ihm grosse, breite, dunkelrothe Brocken, die Reste zerfallener Aspergilleen.

Kan. 26a. Niere. Gemisch von T.-B. av. und Aspergillus, 15 Tage. Färbung nach Gram-Weigert. Mikroskopische Vergrösserung Zeiss B. Zahlreiche, unregelmässig gestaltete, grosse und kleine Pilzherde. Bei Immersionsvergrösserung zeigen die langfädigen, hellrothen Pilze deutliche Polkörperchen, einige endigen in zarten Kölbchen; neben den Herden viele ausgekeimte Aspergillussporen.

Kan. 28 erhält unter die Dura von T.-B. av. 2 Platinösen voll, die vorher in eine dünne Aufschwemmung von Mucor rhizopodiformis und corymbiser eingetaucht waren.

Dem Thiere wird nach 20 Tagen die Impfstelle entfernt. Es konnten aus diesem Material Mucorinceen durch die Cultur nicht mehr nachgewiesen werden, auch fehlte es an deutlichen Tuberkelpilzherden.

Endlich wurden auch noch Injectionen geringer Mengen von Aspergillussporen und Mucorsporen in die Carotis gemacht, um zu sehen, ob bei intraarterieller Injection die gleichen Keulenbildungen auftraten, wie sie Ribbert (10) bei intravenöser gesehen. Auch hier war das Resultat ein negatives.



Diese Versuchsreihen zeigen bereits, dass eine so innige Verschmelzung von T.-B. und Schimmelpilzsporen, wie sie Bostroem annehmen müsste, überhaupt nicht stattfindet; entweder wachsen beide Pilzarten ganz gesondert von einander, oder die eine verhindert die andere überhaupt am Wachsthum.

Wenn Bostroem ferner geltend macht, dass das verhältnissmässig spärliche Auffinden der Gebilde zu der Infection mit reichlichen Pilzmassen in einem gewissen Widerspruch stände, auch die von ihm selbst vorgenommenen Infectionen mit grossen Mengen von Bakterien zu keinem Resultat geführt hätten, so muss ich dazu bemerken, dass oft grosse Mühe und viel Geduld erforderlich ist, um die Herde Schnitt für Schnitt zu färben und zu durchmustern, denn häufig sind sie so flach, dass in einem ganzen, in Serienschnitte zerlegten Tuberkel nur drei aufeinander folgende Schnitte einen Herd enthalten. Schliesslich wird man aber meistens für ausdauerndes Suchen doch noch entschädigt, wenn man nur die für die Auffindung unerlässlichen Färbungen (Weigert'sche oder Birch-Hirschfeld'sche Methode) anwendet.

Die Zeit des Auftretens der strahlenpilzähnlichen Herde, der Zeitraum vom 15. bis 30. Tage, sollte sich nach Bostroem's Meinung mit Ribbert's (9) Beobachtungen über die Zeitverhältnisse des Unterganges pathogener Schimmelpilze im Thierkörper decken. Hierin irrt sich Bostroem entschieden. Die Ribbert'schen Untersuchungen erstrecken sich auf Aspergillus flavescens, Aspergillus fumigatus und Mucorineen. Er machte Injectionen mit Aufschwemmungen geringer und grösserer Mengen dieser Pilze in die Blutbahn. Ueber den Untergang der Sporen von Aspergillus flavescens in der Leber sagt er ausdrücklich: „Die Zeitdauer, nach welcher ihr völliger Untergang constatirt werden kann, ist nicht immer die gleiche, einzelne verschwinden rascher, andere langsamer, aber schon nach 120 Stunden kann man oft lange suchen, ehe man in einer Riesenzelle noch Andeutungen von Sporen auffindet." Bei der Injection grosser Sporenmengen kommt es mehr oder weniger zu ausgeprägter, regelrechter Sprossung, doch gehen die Thiere rasch zu Grunde. Vom Verhalten der Sporen von Aspergillus flavescens in der Lunge heisst es, dass ganz ähnlich wie in der Leber die Sporen eigenartige Wachsthumserscheinungen darbieten, die sich durch Vergrösserung und Bildung eines Strahlenkranzes geltend machen, auch wird das Auftreten kolbiger Anschwellungen der Pilzfäden erwähnt. Während nun das Auftreten der strahlenpilzähnlichen Wuchsformen der Tuberkelpilze nicht vor dem 14. Tage nach der Injection beobachtet wurde, macht Ribbert besonders darauf aufmerksam, dass man nach 10 Tagen oft lange vergeblich nach Spuren der Pilzkeime suchen muss. Aus diesen Ausführungen Ribbert's dürfte zur Genüge hervorgehen, wie



wenig die Heranziehung dieser Arbeit zur Begründung eines Einwurfes, was die Zeit des Auftretens der eigenthümlichen Gebilde betrifft, zu verwerthen ist.

Auch das Verschwinden der Gebilde, hat Bostroem behauptet, spräche für die Schimmelpilznatur derselben. Babes und Levaditi, sowie Friedrich hatten das Optimum für das Auffinden auf den 15. bis 30. Tag angegeben. Nun ist einmal schon diese Dauer eine lange Zeit gegenüber der in den Ribbert'schen Angaben betonten, in denen immer nur von wenigen Stunden oder etlichen Tagen gesprochen wird, und ausserdem habe ich ja gerade oben hervorgehoben, dass ich die fraglichen Gebilde, und zwar in besonders typischer Weise selbst noch nach 49, 52 und sogar 91 Tagen gefunden habe. Dass aber auch von einem raschen und plötzlichen Verschwinden der strahligen Herde keine Rede sein kann, geht noch aus anderen Momenten hervor. Ebenso wie man bis zu einem gewissen Grad das allmähliche Entstehen verfolgen kann, ist auch ein allmähliches Verschwinden zu beobachten. Als erstes Zeichen ihres beginnenden Zerfalles muss man die in den Pilzen des Herdcentrums auftretende Körnelung betrachten, später geht die Unterscheidbarkeit der einzelnen Tuberkelpilze ganz verloren, man sieht dann nur noch an ihrer Stelle eine krümelige Masse, wie es in den Präparaten von Kan. 3, Gehirn 17 Tage, und Kan. 6, Gehirn 38 Tage, der Fall ist. Haben die Kolben eine bestimmte Länge und Breite erreicht, so tritt in ihnen eine Segmentirung auf, die bei Kan. 7, Gehirn 30 Tage, deutlich ausgeprägt ist. Darauf lösen sie sich ebenfalls in Bröckel und Krümel auf; Kan. 4a, Gehirn 49 Tage, zeigt diese Verhältnisse am besten. Diese Veränderungen finden aber nicht an allen Herden gleichzeitig statt, so dass man auch noch nach ca. 50 Tagen normale und bereits nach ca. 4 Wochen zerfallene Herde auffinden kann. Namentlich das völlige Verschwinden des bacillären oder fädigen Centrums kann bereits relativ früh zu Stande kommen. Auch sieht man bereits frühzeitig das Auftreten von kugeligen Gebilden, so dass grosse Zellen mit solchen Kugeln und kleinen Keulen geradezu vollgepfropft sein können. Babes hat diese Gebilde bereits als Zerfallsproducte der Kolben aufgefasst, und es liegt kein Grund vor, die Richtigkeit dieser Ansicht zu bestreiten. Diese Gebilde sind es vor Allem, die von Bostroem für Schimmelpilzsporen gehalten werden, und es ist auch gar nicht zu leugnen, dass sie mit den von Ribbert abgebildeten zerfallenen Schimmelpilzsporen durchaus übereinstimmen. — Endlich hat bereits Lubarsch hervorgehoben, dass die strahligen Herde, ebenso wie Aktinomycesdrusen schliesslich verkalken können und dies damit begründet, dass man in späteren Stadien zahlreiche Kalkherde von unregelmässiger Gestalt in den Impftuberkeln findet. Mir ist es dann gelungen, bei Kan. 20

im orbitalen Fettgewebe und der Thränendrüse Herde zu finden, die auf einer Seite noch den typischen strahligen Bau aufwiesen, auf der anderen aber bereits verkalkt waren. —

Der schlagendste Beweis sollte nach Bostroem's Ansicht der Umstand sein, dass die Strahlen und kolbigen Endigungen an diesen Herden die Tuberkelbacillenfärbung nicht annehmen. — Folglich sollten sie auch mit den Tuberkelpilzen nichts zu thun haben. Nun ist es doch eine durchaus willkürliche Voraussetzung, dass die in alten Culturen auftretenden Keulen mit den im Gewebe vorkommenden in jeder Beziehung übereinstimmen müssten. Alle Erfahrungen über die Strahlenpilze zeigen vielmehr, dass das nicht der Fall ist; beim classischen Strahlenpilz (Aktinomyces bovis et hominis) treten bekanntlich in den bisher gelungenen Culturen überhaupt keine Kolben auf, und auch Berestnew (11), der in neuester Zeit verschiedene Strahlenpilzvarietäten züchtete, berichtet nichts von typischen Keulenbildungen in den Culturen. Es ist also gerade nach den Erfahrungen mit den bisher bekannten Strahlenpilzen unberechtigt, zu verlangen, dass sich die Keulen im Thierkörper ebenso verhalten müssen, wie in der Cultur. Weiter ist aber auch das tinctorelle Verhalten, sowohl bei den Kolben des Aktinomycespilzes, als denen des Tuberkelpilzes, ein so variables und launenhaftes, dass daraufhin wenig geschlossen werden kann. Haben wir doch auch Präparate vom 14. und 16. Tage (Kan. 25 und Kan. 1), in denen die Strahlen und Kolben die Fuchsinfärbung noch angenommen haben, wodurch dieser Einwurf überhaupt hinfällig wird.

Endlich sei noch auf die Beobachtungen Metschnikoff's hingewiesen, der in Riesenzellen beim Ziesel und Kaninchen eigenthümlich geformte Klumpen mit z. Th. fingerförmigen Fortsätzen auffand, die sich ebenfalls metachromatisch verhielten (acidophil waren), und wahrscheinlich aus zusammengesinterten und gequollenen Bakterienleibern bestanden. Auch hier eine Verunreinigung anzunehmen, dürfte doch wohl kaum angehen. Dass aber das Auftreten von Strahlenpilzformen mit Kolben überhaupt bei den Streptotricheen, und zwar gerade bei denen, welche den Tuberkelpilzen sehr nahe stehen, etwas unregelmässiger ist, geht aus weiteren Versuchsreihen von Prof. Lubarsch hervor, von denen ich hier Einiges anführen will.

Bei localer Impfung von Streptothrix Eppinger in Niere fand er ganz typische, bei Weigertfärbung von den Tuberkelpilzherden nicht zu unterscheidende Strahlenpilz- und Keulenformen schon nach 4 Tagen (in dem Fall wurde auch gezüchtet: es wuchs nur Streptothrix Eppinger); bei Impfung von Timotheebacillen in Niere sind prachtvollste Strahlen- und Keulenformen schon nach 13 Tagen vorhanden (auch Züchtung: nur Timothee-



bacillen gewachsen). Es sind diese Thatsachen natürlich geeignet, die Bostroem'schen Einwände zu widerlegen.

Ich bin auf diese Einwände deswegen so ausführlich eingegangen, nicht nur wegen der persönlichen Autorität Bostroem's, dessen Arbeiten über Aktionomykose ja von hervorragendem Werthe sind, sondern auch, um etwaige ähnliche Einwände von anderer Seite von vornherein abzuschneiden.

Ich gehe nun auf die Frage ein, welche Bedeutung den Kolbenbildungen bei den Tuberkelpilzen zukommt. Hier stehen sich im Wesentlichen die gleichen Ansichten gegenüber, wie bei den Kolben der Aktinomycespilze. Die älteren Autoren, die ohne Weiteres den Strahlenpilz zu den Hyphomyceten rechneten, glaubten die Kolben als Gonidienbildungen auffassen zu dürfen, während vor Allem Bostroem (13) und überhaupt die Mehrzahl der Bakteriologen, welche den Aktinomycespilz zu den Spaltpilzen rechnen, die Keulen als Involutionsformen (Degenerationsproducte) ansehen wollen. Ebenso glaubt auch Babes die Kolbenbildungen des Tuberkelpilzes als Involutionsformen ansehen zu dürfen, während Friedrich mehr dazu neigt, sie als Wachsthumsformen anzusehen, die gerade auf der Höhe der Pilzentwickelung entstehen. Lubarsch hat sich dann dahin ausgesprochen, dass er sie als abortive Wuchsformen ansieht, die dann eintreten, wenn ein im Wachsthum begriffener Herd in seinem Wachsthum beschränkt wird. Zum Beweise dieser Anschauung muss zunächst die Vorfrage beantwortet werden, ob die Strahlenpilzherde überhaupt durch Vermehrung einzelner oder Gruppen von Pilzen entstehen, oder ob sie vielmehr bereits als Herde injicirt werden, an denen nur später gewisse Veränderungen sich vollziehen. Die Frage ist nicht ganz so leicht zu beantworten, denn es ist sicher, dass bei der Versuchsanordnung, wie sie von Babes und Friedrich einerseits und mir andererseits befolgt wurde, kleinere Bröckel in die Gewebe gelangen und weiter geschleppt werden. In den Fällen, wo die Herde aus grösseren, centralen Haufen absterbender Stäbchen, schlecht färbbarer und peripherer Kolben bestehen, wie es z. B. bei Kaninchen 25 an einzelnen Herden der Fall war, ist es durchaus wahrscheinlich, dass die Herde in der Form, wenn auch nicht in der vollen Ausbildung, direct übertragen wurden. Anders liegt es in den Fällen, wo wir z. B. grössere Herde nach intraarterieller Injection in Gewebstuberkelzellen, nicht innerhalb der Blutbahn antreffen. Hier kann es sich nur um Herde handeln, die aus einzelnen Stäbchen entstanden waren, da aus der Blutbahn in's Gewebe nicht ganze Herde, sondern nur Einzelindividuen gelangen können. Ebenso müssen solche strahlige Herde, deren bacillärer Antheil kräftig färbbar ist, Verlängerungen, Anschwellungen und sogar Zweigbildung aufweist, auf eine Neubildung aus einzelnen Stäbchen bezogen werden.



Wenn nun ein scheinbarer Widerspruch darin liegt, dass wir einen Theil der Herde aus zu Grunde gehenden alten, einen anderen Theil aus neu gebildeten, jungen Individuen bestehen lassen, so ist doch dieser Widerspruch bezüglich der Kolbenbildung nur ein scheinbarer. Denn der Unterschied liegt dann eben nur darin, dass bei den Herden mit centralem Zerfall das Wachsthum sich ausschliesslich auf die Peripherie beschränkt. Dass aber die Kolben in der That eine Wachsthumsform darstellen, dafür sprechen besonders die Versuche, in denen von einem und demselben Organ verschiedene Stadien untersucht werden konnten. So sahen wir bei Kan. 18, als nach 16 Tagen ein Stückchen Niere exstirpirt wurde, kaum eine Andeutung von Kolben, während sie nach 18 Tagen in der Form sich nach aussen zuspitzender Gebilde bereits vorhanden waren. Bei Kan. 20 erschienen nach 22 Tagen in der Niere die Kolben vorwiegend klein, schmal und zugespitzt; nach 24 Tagen erschienen sie aber schon in typischer Weise wie beim Aktinomyces; bei Kan. 30 waren die Kolben innerhalb 14 Tagen um mehr als das Doppelte gewachsen. Auch bei den anderen Versuchen sehen wir, dass dort, wo die geringste Zeitdauer vorliegt (Kan. 1, 3, 14 und 25), die Kolben vorwiegend schmal und zugespitzt sind, während sie in den Fällen mit längerer Versuchsdauer eine sehr erhebliche Länge und Dicke zu besitzen pflegen (Kan. 4a und 6). Es ist also keine Frage, dass die peripheren Stäbchen, aus denen die Keulen entstehen, sich allmählich erheblich vergrössern können, so dass allerdings von einer Wuchsform gesprochen werden kann. Damit ist nun freilich noch nicht gesagt, dass es sich um Wuchsformen handele, die mit Gonidien der Hyphomyceten identificirt werden dürfen. Man könnte ja freilich um so mehr daran denken, weil die neueren Untersuchungen es sichergestellt haben, dass die Strahlenpilze zu den Hyphomyceten gerechnet werden müssen, wie das vor allem die Untersuchungen von Lachner-Sandoval (12) wahrscheinlich machen. Dass auch die Tuberkelpilze zu der grossen Gruppe der Strahlenpilze gehören, wird ja gerade durch meine Untersuchungsergebnisse wahrscheinlich gemacht; doch will ich hier auf diese Frage nicht näher eingehen, weil sie demnächst von Herrn Prof. Lubarsch auf Grund vergleichender Studien eingehender erörtert werden soll. Trotz dieser botanischen Zugehörigkeit oder zum mindesten nahen Verwandtschaft der Tuberkelpilze zu den Hyphomyceten halte ich es nicht für erlaubt, die Keulen als Gonidien anzusprechen, weil jeder Beweis, dass aus ihnen neue vegetative Formen hervorgehen, fehlt.

Ich glaube, in dem Auftreten der strahlenpilzähnlichen Herde den Ausdruck der Ueberwältigung der Pilze durch die Energie des umgebenden Gewebes sehen zu müssen; denn wenn gerade die Pilze der Peripherie diese eigenthümlichen Wuchsformen zeigen, so liegt es sicher daran, dass



ihnen noch das meiste Nährmaterial und eine an sich weniger widerstandsfähige Umgebung zur Entfaltung ihrer letzten Kraft zur Verfügung steht, während die unter ungünstigeren Ernährungs- und Raumverhältnissen stehenden Pilze des Centrums bereits früher zu Grunde gehen. Die Kolbenbildung ist jedenfalls ein pathologischer Vorgang, indem die gegen das Gedrücktwerden sich wehrenden Pilze von der Reaction des umliegenden Gewebes überwältigt werden und nun durch Einlagerung von Gewebsflüssigkeit eine Auftreibung der Kapsel stattfindet, die, allmählich sich steigernd, schliesslich zu ihrer Sprengung und dem Zerfall des ganzen Gebildes führt. Die intensiv gefärbten Scheiben und Bröckel sind dann die letzten widerstandsfähigeren Ueberbleibsel der Kolben. Haben wir es überhaupt schon mit lebensschwachen Pilzen zu thun, so ist noch von besonderer Bedeutung für die Auffassung der Kolbenbildung als pathologischer Erscheinung der Umstand, dass die der am wenigsten virulenten Cultur entnommenen Tuberkelpilze die Kolben am frühesten zeigten. Ferner spricht dafür der Verlust ihrer Färbbarkeit nach Ziehl-Neelsen in einem bestimmten Alter; denn durch die Annahme der Färbung nur in früher Jugend und dem späteren negativen Ausfall der Färbung wird zum mindesten bewiesen, dass sie in dieser Zeit gewisse Umwandlungen erfahren haben, die der noch bisweilen als dunkelrother achsialer Faden kenntliche Pilz nicht erfahren hat. Solche Veränderungen können aber nach dem weiteren Schicksal der Kolben nur pathologischer Natur sein. Somit glaube ich, dass sie durchaus zu identificiren sind mit den Keulenbildungen bei pathogenen Schimmelpilzen im Kaninchenkörper, wie sie von Lichtheim und Ribbert beobachtet worden sind. Dafür sprachen vor Allem auch die Bedingungen, unter denen wir das Auftreten unserer Strahlenpilzformen finden.

Zunächst sehen wir, dass sich die Strahlenpilzformen dort am regelmässigsten und reichlichsten bilden, wo die tuberculöse Wucherung eng localisirt bleibt, wie in Gehirn und Niere; in Leber und Hoden, wo keine so vollkommene Abkapselung der Pilze eintritt, ist dagegen die Bildung der Strahlenpilzformen weder so regelmässig, noch so reichlich. Weiter sieht man überall dort, wo die Strahlenpilzformen vorhanden sind, eine enge Beziehung zwischen ihnen und den Zellen. Entweder liegen die Herde in mächtigen, vielkernigen Riesenzellen eingeschlossen (s. Taf. I, Figg. 5 und 10), oder von ihnen umringt (Taf. I, Figg. 4 und 6), oder sie sind von einem Wall von Leukocyten umgeben (Taf. I, Figg. 1, 2 und 7), ganz wie es in Ribbert's Untersuchungen über den Untergang der pathogenen Schimmelpilze im Thierkörper beschrieben ist. Gerade diese Uebereinstimmung, die somit in allen Punkten zwischen den Strahlenpilzformen der Schimmel- und Tuberkelpilze besteht, spricht für die Auf-



fassung, dass eine wesentliche Ursache der Strahlenpilzbildung in der durch den Einfluss der umhüllenden Zellen bedingten Wachsthumshemmung liegt.

Freilich sind damit wohl noch nicht alle Bedingungen erschöpft, denn hier und da sieht man auch Tuberkelpilzherde von Zellen umgeben, ohne dass Kolbenbildungen eintreten. Auffallend ist es auch, dass, wie Friedrich hervorgehoben, die Strahlenpilzformen bei intravenöser Injection viel seltener auftreten, als bei intraarterieller. Man konnte deswegen daran denken, dass der Zutritt von Sauerstoff für die Entstehung der Strahlenpilzformen von Bedeutung sei. Ich habe nach dieser Richtung einige Versuche gemacht, indem ich mehreren Thieren in die doppelt unterbundene Carotis und Vena jugularis Tuberkelpilze einimpfte. Allein die Versuche hatten kein prägnantes Resultat: weder in der Carotis noch in der Jugularvene kam es zur Kolbenbildung, weil eben in dem gerinnenden Blute nicht genügend Nährmaterial vorhanden ist. Etwas mehr spricht für die Bedeutung des Sauerstoffzutritts der Umstand, dass bei annähernd offener Wundbehandlung der Trepanationswunden (namentlich wenn das trepanirte Knochenstück nicht reponirt wurde) besonders reichlich Strahlenpilzformen in den Gehirntuberkeln auftraten. Doch sind die Versuche noch nicht zahlreich genug, um einen ganz sicheren Schluss zu gestatten.

Es erübrigt noch die Frage zu beantworten, ob denn zwischen den Strahlenpilzformen des Tuberkelpilzes und des Aktinomyces hominis et bovis keine Unterschiede bestehen. Gewisse Unterschiede sind ja insofern bereits da, als die Fäden des Aktinomyces hominis et bovis nicht die Tuberkelbacillenfärbung geben; im Uebrigen besteht aber eine weitgehende Uebereinstimmung namentlich in dem Verhalten der Kolben. Lediglich das Verhalten zur Weigert'schen Färbung und zur Bostroem'schen Doppelfärbung gestattet eine gewisse Unterscheidung, insofern als die Aktinomyceskolben die Weigert'sche Färbung nicht so regelmässig annehmen, wie die Tuberkelpilzkeulen und letztere wiederum nach der Bostroem'schen Methode nicht oder nur unvollkommen färbbar sind. Aber diese Unterschiede sind nicht principieller Natur, da bekanntlich auch die Aktinomyceskolben sehr launisch sind und den verschiedenen Färbungsmethoden gegenüber sich sehr verschieden verhalten. — Man sieht hieraus, dass doch mancherlei Anhaltepunkte für eine Verwandtschaft beider Pilzarten vorhanden sind, während durchgreifende Unterschiede fehlen. Selbstverständlich muss zur Entscheidung dieser wichtigen Frage noch weiteres umfangreiches Material gesammelt werden.

Die Versuche mit T.-B. hom., ferner die mit Streptothrix Eppinger und Timotheebacillen weisen darauf hin, dass die Bildung strahliger Herde und mächtiger metachromatischer Keulen und Kolben unter bestimmten

Bedingungen ein vielen Streptotricheen zukommendes Characteristicum ist. Wenn dieselbe noch nicht bei allen einzelnen Arten nachgewiesen ist, so liegt es wahrscheinlich daran, dass noch nicht die geeigneten Bedingungen gefunden wurden. Diejenigen Pilze, bei denen die Formen gefunden sind (Aktinomyces, T.-B. hom., T.-B. av., Streptothrix Eppinger und Timotheebacillen), beweisen hierdurch eine engere Zusammengehörigkeit. — Und weiter wird es, wie bereits oben erwähnt, durch alle die zusammengestellten Thatsachen immer wahrscheinlicher, dass auch der Erreger der Tuberculose nicht zu den Spaltpilzen, sondern den echten Fadenpilzen gehört. Damit dürfte dann auch die so geläufige und uns historisch so werthvolle Bezeichnung „Tuberkelbacillus“ der inneren Berechtigung entbehren. Wir haben uns daher auch bereits bemüht, überall den Namen „Tuberkelbacillus“ durch „Tuberkelpilz“ zu ersetzen.

Zum Schlusse ist es mir ein Bedürfniss, meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. Lubarsch, für die Anregung zu dieser Arbeit und die bei ihrer Abfassung gewährte reichliche Unterstützung, besonders auch für die Anfertigung der Abbildungen meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Litteratur-Verzeichniss.

1. Prof. Angelo Petrone, citirt nach Coppen Jones, *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde.* Bd. XX.

2. E. Metschnikoff, Ueber die phagocytäre Rolle der Tuberkelriesenzellen. Virchow's *Archiv.* Bd. CXIII. S. 63.

3. Fischl, *Fortschritte der Medicin.* 1892. — *Zur Morphologie und Biologie des Tuberculoseerregers.* Wien 1893.

4. Coppen Jones, Ueber Morphologie u. systematische Stellung des Tuberkelpilzes. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XVII.

5. H. Bruns, Beitrag z. Pleomorphie der Tuberkelbacillen. *Ebenda.* Bd. XVII.

6. Kruse, Flügge's *Mikroorganismen.* 3. Aufl.

7. K. B. Lehmann u. R. Neumann, *Atlas u. Grundriss der Bakteriologie und bakteriol. Diagnostik.* Würzburg.

8. Babes et Levaditi, Sur la forme actinomycosique du bacille de la tuberculose (Taf. IX u. X). *Archives de méd. expérimentale et d'anatomie pathologique.* November 1897. Nr. 6.

9. Friedrich, Ueber strahlenpilzähnliche Wuchsformen des Tuberkelbacillus im Thierkörper. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1897. Nr. 41.

10. Ribbert, *Der Untergang pathogener Schimmelpilze im Körper.* Bonn 1887.

11. Berestnew, Ueber Pseudoaktinomykose. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXIX. S. 94.

12. Lachner-Sandoval, *Ueber Strahlenpilze.* Strassburg 1898.

13. Bostroem, Untersuchungen über die Aktinomykose des Menschen. Ziegl. *Beiträge.* Bd. IX.



Erklärung der Abbildungen.

(Taf. I.)

Fig. 1. Aus einem Nierentuberkel von Kaninchen 20 (intraarterielle Injection) Nierenstückchen nach 22 Tagen herausgeschnitten, beginnende Kolbenbildung. Färbung Carmin Weigert.

Fig. 2. Von demselben Thiere nach 25 Tagen. Strahlenpilzherde, Bacillen blau, Kolben roth. 2 isolirte Kolben. Methode Friedrich.

Fig. 3. Von demselben Thiere nach 25 Tagen. Aus einem Mammatuberkel sternförmiger Herd. In den Zellen Kolbenbröckel und spitze Fragmente. Färbung Carmin Weigert.

Fig. 4. Aus einer Gehirngranulation von Kan. 1 (16 Tage). Strahlenpilzherd in einem Lymphraum; oben eine Riesenzelle. Die Keulen fast ungefärbt. Tuberkelbacillenfärbung nach Ziehl-Neelsen.

Fig. 5. Aus einer Gehirngranulation von Kan. 6 (38 Tage). Grosser Strahlenpilzherd in einer Riesenzelle. Die Kolben leicht roth gefärbt. Färbung wie in Fig. 4.

Fig. 6. Von derselben Granulation. Strahlenpilzherd im Lymphraum, z. Th. von einer Riesenzelle umschlossen; sehr lange Kolben. Färbung Carmin Weigert.

Fig. 7. Aus einer Gehirngranulation von Kan. 4a. Sehr lange basophile Kolben. Färbung nach Ziehl-Neelsen.

Fig. 8. Aus einem Nierentuberkel (locale Einimpfung, 16 Tage). Strahlenpilzherd mit spitz endenden Kolben. Färbung Carmin Weigert.

Fig. 9. Aus einer Gehirngranulation von Kan. 42, subdurale Impfung mit Hühnertuberculose, 28 Tage. Färbung nach Birch-Hirschfeld. Kolben violett-roth.

Fig. 10. Aus einer Gehirngranulation von Kan. 9 (Impfung mit Streptothrix Eppinger). Grosser Herd in einer Riesenzelle. Färbung nach Birch-Hirschfeld.

Vergrösserung in allen Abbildungen: Zeiss $^1/_{12}$, Oc. 3.

Zur Kenntniss der Strahlenpilze.

Von

Prof. Dr. **O. Lubarsch**
in Rostock.

(Hierzu Taf. I, Figg. 11—19.)

In der vorstehenden Arbeit meines Schülers Dr. Schulze sind bereits eine Reihe von Beobachtungen mitgetheilt worden, die uns die Berechtigung zu geben scheinen, das Gebiet der Strahlenpilze zu erweitern und einige Mikroorganismen dieser Gruppe anzureihen, die man bisher nicht dahin gerechnet hatte. Die nachfolgenden Untersuchungen sollen noch einige Ergänzungen zu der Arbeit von Herrn Schulze liefern, in der hauptsächlich das Verhalten der Pilze der Säugethiertuberculose geschildert ist. Nachdem für sie nachgewiesen war, dass sie unter bestimmten Umständen ganz typische Strahlenpilzformen bilden, war es von grossem Interesse, zu untersuchen, wie sich die den Pilzen der Säugethiertuberculose nahestehenden Mikroorganismen verhalten. Meine Untersuchungen beziehen sich auf 4 verschiedene Mikroorganismengruppen: 1. die modificirten Tuberkelpilze; 2. die säure- und alkoholfesten Pseudotuberkelpilze; 3. einige andere (nicht säure- und alkoholfeste) Erreger von Knötchenkrankheiten (Streptothrix asteroides, Rotzbacillen); 4. andere der Streptothrixgruppe angehörende oder nahestehende Mikroorganismen (Streptothrix Petruschky, Diphtheriebakterien).

Bevor ich zur Schilderung dieser Versuche übergehe, ist es nöthig, kurz anzugeben, welche Eigenschaften für die Gruppe der Strahlenpilze charakteristisch sind. Im Wesentlichen deckt sich ja die Bezeichnung Strahlenpilze, wie sie von Gasperini[1] und neuerdings von Lachner-Sandoval[2] angewendet wird, ziemlich mit der der Streptotricheen. Für letztere wird ja jetzt allgemein anerkannt, dass sie in ihren Wuchsformen und ihrem biologischen Verhalten zum mindestens zwischen Spaltpilzen und Hyphomyceten stehen, indem sie sich bald durch einfache Spaltung, bald durch echte Zweig- und Sprossenbildung vermehren. Auf

[1] Ricerche morphologiche e biologiche sul genere Actinomyces Harz. *Annal. dell Inst. d'Igiene.* Roma 1892. II, 2.
[2] *Ueber Strahlenpilze.* Strassburg 1898.

die Frage, ob nicht diese ganze Gruppe von Pilzen oder wenigstens ein Theil von ihnen besser ganz zu den Hyphomyceten zu rechnen ist, soll hier noch nicht eingegangen werden. Als besondere Charakteristica der eigentlichen Strahlenpilze möchte ich nun Folgendes aufstellen. 1. Sie können im Thierkörper Herde von strahligem Bau und keulen- bezw. kolbenartige Fortsätze bilden. 2. Ihre Fäden haben die Neigung, zu Stäbchen, Kugeln und Schrauben zu zerfallen. 2. In ihren Culturen treten mehr oder weniger mächtige, kolbige Anschwellungen der Fäden oder Stäbchen auf. 4. Ihre Colonieen auf künstlichen Nährböden haften fest an und besitzen meist eine trockene, krümliche Beschaffenheit; auch neigen sie zur Bildung von gelblichen, bis röthlichen Farbstoffen. 5. Sie bringen, sofern sie überhaupt krankmachende Eigenschaften besitzen, im Thierkörper Knötchenkrankheiten hervor. — Alle diese Eigenschaften müssen bei der Beurtheilung, ob eine Pilzart zu den Strahlenpilzen zu rechnen ist, berücksichtigt werden, natürlich mit der Maassgabe, dass diese Characteristica nicht starre, sondern nur unter bestimmten Bedingungen in Erscheinung tretende Eigenschaften sind.

I. Die modificirten Tuberkelpilze.

Unter „modificirten Tuberkelpilzen“ verstehe ich solche Tuberkelpilze, die entweder durch äussere Eingriffe eine Modification ihrer morphologischen und biologischen Eigenschaften erlitten haben oder eine so innige natürliche Verwandtschaft zu den Pilzen der Säugethiertuberculose besitzen, dass man sie von jenen oder einer gemeinsamen Stammform ableiten muss. Dies trifft vor allem für die Pilze der Vogeltuberculose zu, die bekanntlich in vielen Punkten mit denen der Säugethiertuberculose übereinstimmen. Was als Unterschiede angegeben wird, ist, ausser dem Verhalten gegenüber Meerschweinchen und Hühnern, keineswegs sehr constant und unterliegt nicht nur leicht künstlichen, sondern auch natürlichen, uns im Einzelnen unbekannten Schwankungen. Wenn man als das charakteristische Unterscheidungsmerkmal aufgestellt hat, dass die Hühnertuberkelpilze mehr feuchte und glatte Wucherungen auf künstlichen Culturen bilden, so ist dem ja im Allgemeinen zuzustimmen, nur mit der Einschränkung, dass doch nicht ganz selten Ausnahmen davon vorkommen. Nach meinen Erfahrungen kann man drei Wachsthumsarten der Hühnertuberkelpilze unterscheiden: 1. feuchte und glatte, leicht zerreibbare Colonieen von mehr schleimiger Beschaffenheit. 2. Trockene, gerunzelte Häute, die fester zusammenhängen und daher schwerer zerreiblich sind. 3. Culturen, die sich vom Typus der Säugethiertuberkelpilze in nichts unterscheiden, ebenso langsam wachsen, trockene Schüppchen und gebirgsartige Massen bilden. Es kommt vor, dass bei einer und der-



selben Cultur im Verlauf der Weiterzüchtung verschiedene Wuchsarten auftreten; so hat schon Kruse[1] beobachtet, dass Culturen, die erst nach dem Typus der Koch'schen Mikroben wuchsen, später feuchte und weiche Beläge bildeten; ich habe mehrfach beobachtet, dass Culturen von ursprünglich feuchter Beschaffenheit beim Weiterzüchten auf Agar-Agar eine mehr trockene und gerunzelte Beschaffenheit annahmen, was besonders ausgeprägt erschien, wenn man die Culturen mehrere Wochen in der Kälte und im Dunkeln stehen liess und dann wieder der Brütschranktemperatur aussetzte. In solchen Culturen trifft man auch sehr reichlich typische echte Verzweigungen und mächtige Keulenbildungen an, wie sie in Fig. 16 abgebildet sind. In einer derartigen, fast drei Monate alten Cultur waren diese Formen so reichlich, dass man zunächst fast nur verzweigte oder mit kolbigen Anschwellungen versehene Fäden zu Gesicht erhielt, während nach meinen Erfahrungen in den Culturen mit trockenen Bröckeln und Schüppchen die Stäbchenformen stets überwiegen und verzweigte Fäden oft ganz vermisst werden. — Was nun das Verhalten der Vogeltuberculosepilze im Thierkörper anbetrifft, so ist bereits in der Arbeit von Hrn. Schulze Einiges darüber berichtet worden. Folgendes sei noch zur Ergänzung beigefügt.

A. Vogeltuberculose.

1. Intraarterielle Injection von Vogeltuberkelpilzen.

Kaninchen Nr. 1 erhält am 25. I. 1899 $1^1/_2$ ccm Aufschwemmung einer etwa 3 Wochen alten Cultur in die Carotis injicirt.

Am 21. II. werden aus der Niere einige Tuberkel exstirpirt. Die Befunde entsprechen im Wesentlichen dem bei der Injection von Säugethiertuberkelpilzen nach 22 Tagen, die Herde, von strahligem Bau, sind nicht umfangreich, die Keulen sind noch nicht sehr lang, die spitzen Fortsätze überwiegen. Auch hier liegen die strahligen Herde entweder in Riesenzellen oder von einem Leukocytenkranze umgeben. Färbung nach Friedrich gelingt an einigen Präparaten; sonst färben auch sie sich am besten nach der Weigert'schen Methode.

Am 26. II. werden wiederum einige Tuberkel aus der Niere entfernt. Strahlenpilzherde ohne Mühe auffindbar. Die Kolben deutlich länger und dicker.

Am 6. III. stirbt das Thier, also nach 40 Tagen. Bei der Section finden sich zahlreiche Tuberkel in Niere, Gehirn, Lunge; vereinzelte in Leber, Darm und Iris.

Strahlenpilzherde werden gefunden in Niere, Gehirn, Iris und Darm; in Lunge und Leber vermisst. In Gehirn und Niere sind die Kolben von beträchtlicher Länge, einzelne färben sich bei der Tuberkelbacillenmethode durch Methylenblau hellblau.

Kaninchen Nr. 2 erhält am 10. II. 1899 ca. 2 ccm Aufschwemmung einer 4 Wochen alten Cultur in die Carotis injicirt.

[1] Ziegler's *Beiträge*. Bd. XII.



Die nach 4 und 5 Wochen aus der Niere exstirpirten Herde zeigen dasselbe Resultat, wie bei Kaninchen Nr. 1. Das Thier stirbt $2^1/_2$ Monate nach der Injection; zahlreiche Tuberkel in Niere, Gehirn und Lunge; spärlich in Milz und Leber. Strahlenpilzherde werden nicht mehr gefunden.

Im Wesentlichen hatte dieser Versuch also das gleiche Ergebniss, wie ähnliche Versuche mit Säugethiertuberculose. Auch hier liess sich durch die zu verschiedenen Zeiten vorgenommene Untersuchung die Längen- und Dickenzunahme der Kolben feststellen. Bemerkenswerth ist auch, dass in den Tuberkeln von 40 Tagen die Kolben nicht mehr ausgesprochen acidophil, sondern mehr basophil waren.

2. Locale Impfungen in die Niere.

Nachdem einige Versuche gezeigt hatten, dass jedenfalls nach 15 bis 18tägigem Verbleiben der Vogeltuberkelpilze in der Kaninchenniere noch keine Strahlenpilzformen auftreten, wurden in weiteren Versuchen erst am 20. und 22. Tage die Impfstellen aus der Niere entfernt. Auch hier war das Resultat zunächst negativ und erst als ein Tuberkel vom Kaninchen 5 (Excision des Tuberkels nach 22 Tagen) vollständig in Serienschnitte zerlegt war, wurden einige kleine und recht flache Strahlenpilzherde mit Keulen gefunden. Reichlicher waren sie dagegen bei Kaninchen 6 vorhanden, dem an zwei verschiedenen Stellen der rechten Niere Culturmaterial eingebracht und ein Herd nach 27 Tagen exstirpirt war. Hier fanden sich zahlreichere typische Herde, auch wieder von Leukocyten oder Riesenzellen umgeben. In dem zweiten, erst nach 40 Tagen herausgeschnittenen Herd waren die Strahlenpilzherde entschieden spärlicher vorhanden, die Kolben hatten aber an Umfang zugenommen. Einige zeigten im Centrum beginnende Verkalkung; bei anderen bestand das Centrum der Drusen theils aus Fäden mit kleinen Zweigen, theils aus körnig zerfallenen Stäbchen.

Es ergiebt sich somit aus diesen Untersuchungen, dass die Pilze der Vogeltuberculose alle diejenigen Eigenschaften besitzen, welche oben als Characteristica der Strahlenpilze angegeben wurden, sodass wir kein Bedenken haben konnten, sie als echte Strahlenpilze zu bezeichnen.

B. Durch Aufenthalt im Froschkörper modificirte Tuberkelpilze.

Bei den Untersuchungen über die Strahlenpilzformen der Säugethiertuberkelpilze impften wir zur Lösung der Frage, ob die Kolbenbildungen reine Degenerationserscheinungen seien, wiederholt Tuberkelpilze in den Lymphsack von Fröschen. Wir konnten dabei feststellen, dass die Tuberkelmikroben vom Lymphsack aus rasch in die inneren Organe gelangen, wo sie in Milz, Leber, Lungen und Nieren, meist in kleinen Häufchen gelegen, schon nach 8 bis 10 Tagen gefunden werden, aber auch noch



nach 2 bis 3 Monaten nachweisbar sind, ohne dass erhebliche morphologische Veränderungen an ihnen nachweisbar wären. Keulenbildungen fehlen völlig, ebenso wenig ist von erheblicher Reaction des Gewebes um die Pilze etwas zu merken. — Als ich von einem Frosch, der acht Wochen lang Tuberkelpilze in seinen Organen beherbergt hatte, einen aus Milz, Leber und Niere bereiteten Gewebsbrei Meerschweinchen in die Bauchhöhle spritzte, zeigte es sich, dass die Thiere auch nach sechs Wochen noch nicht an Tuberkulose erkrankten, und das führte dazu, das biologische Verhalten der in den Froschlymphsack geimpften Tuberkelpilze näher zu untersuchen.

Ueber das Verhalten von Tuberkelpilzen im Organismus von Fröschen liegen bisher nicht völlig übereinstimmende Angaben vor. De Pasquale[1] und de Michele[2] berichteten, dass Frösche und andere Kaltblüter (wie Tritonen, Schlangen, Fische) völlig immun gegen Tuberculose seien, bei welcher Temperatur sie auch gehalten würden, dass die Tuberkelpilze sich aber in ihren Körpern lange erhielten, ohne die Virulenz für Warmblüter zu verlieren oder sonst wie abgeändert zu werden. Bataillon und Terre[3] geben dagegen an, dass es ihnen gelungen sei, Säugethier- und Hühnertuberculose mittels Passage durch Kaltblüter in eine saprophytische (bei gewöhnlicher Temperatur wachsende) Form umzuwandeln; schon nach 11 bis 14 tägigem Aufenthalt im Froschkörper wurde dies erreicht. — Meine eigenen Versuchsergebnisse stimmen weder mit denen von Pasquale und Michele, noch mit denen von Bataillon und Terre völlig überein. Wurden die Mikroben nur etwa 2 bis 3 Wochen im Froschkörper gelassen, so waren sie noch in allen Organen infectionstüchtig für Meerschweinchen und züchtbar; nach 6 bis 8 Wochen erwies sich aber bereits Organbrei als nicht mehr infectiös, obgleich die Züchtung aus Leber und Niere noch gelang, wobei es schon auffiel, dass die Tuberkelpilze verhältnissmässig leicht wuchsen und vor allem nicht so empfindlich gegen Temperaturschwankungen waren, wie das die aus den Säugethierkörpern gezüchteten Tuberkelpilze zu thun pflegen. Nach $2^3/_4$ Monaten erhielt ich endlich aus der Milz eines Frosches Culturen, die am besten bei etwa 28 bis 30° wuchsen, üppig gediehen, sich aber im Uebrigen nicht von gewöhnlichen Tuberkelculturen unterschieden; nur wurden besonders in Culturen auf eiweissfreien Nährböden reichlicher echte Verzweigungen und Kolbenformen gefunden.

[1] Della varietà di tuberculosi negli animali a sangue freddo. *Morgagni.* Febr. 1894.

[2] de Michele. *Ebenda.* 1894. Nr. 2.

[3] La forme saprophytique de la tuberculose humaine et de la tuberculose aviaire. *Compt. rend. de l'acad. des sciences.* 1897. p. 1399.



keit kann ich Möller's Angaben im Wesentlichen bestätigen, nur scheint sie mir im thierischen Gewebe nicht ganz so stark zu sein, wie bei den Tuberkelpilzen. Sie verhalten sich hier eher wie Leprabacillen, bei denen nach meiner Erfahrung eine Verdrängung der Carbolfuchsinfärbung durch Methylenblau leichter möglich ist, als bei den Tuberkelpilzen. Alle diese Unterschiede sind aber so geringfügig, dass es nicht etwa angeht, die von mir gezüchteten Pilze für eine besondere Art zu erklären; höchstens als eine Varietät dürften sie anerkannt werden.

Was nun die Frage nach den Strahlenpilzformen dieser Mikroben anbetrifft, so erschien es nöthig, hier die gleiche Versuchsanordnung einzuschlagen, wie sie von Hrn. Schulze und mir für die Tuberkelpilze eingeschlagen war.

1. Locale Impfungen.

Kaninchen Nr. 14 erhält am 26. XI. 1898 in eine Nierenwunde Timotheepilze aus nur 8 Tage alter Glycerinagarcultur eingeimpft. Am 9. XII., also nach 13 Tagen, wird ein Theil der Impfstelle exstirpirt. An der Imptstelle befindet sich ein etwa linsengrosser, gelblich-weisser Herd von ziemlich fester Consistenz; die Nierenkapsel mit der Umgebung verwachsen und ebenfalls von käsigem Materiale durchsetzt.

Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigt der Nierenherd den typischen Bau eines echten Tuberkels; wie ein Blick auf Fig. 18 ohne Weiteres zeigt; die einzelnen Herde des Conglomerattuberkels bestehen aus grossen epithelioiden Zellen mit hellem Protoplasma und blassen Kernen, zwischen denen Riesenzellen (*Rz*) eingelagert sind und deren Peripherie von zahlreichen intensiv färbbaren einkernigen Rundzellen gebildet wird, während in den centraleren Partieen auch gelapptkernige Leukocyten eingewandert sind. Die eingeimpften Stäbchen liegen zum grössten Theil nicht vereinzelt, sondern in typischen Strahlenpilzherden, wie sie in Figg. 13 und 14 abgebildet sind. Die Kolben dieser Herde fallen schon bei der gewöhnlichen Tuberkelbacillenfärbung nach Ziehl-Neelsen als ungefärbte oder ganz blass-blau gefärbte Gebilde auf; sie verhalten sich im Uebrigen ganz wie die Kolben der Tuberkelpilze, indem sie sich nach Weigert intensiv färben, aber auch zu sauren Anilinfarbstoffen erhebliche Affinität zeigen. Diese Herde sind in den Tuberkeln überall reichlich vorhanden, theils in grossen Langhans'schen Riesenzellen gelegen oder von einem Kranze mehrkerniger Leukocyten umgeben. Das Bild unterscheidet sich in keiner Weise von dem, was man bei Impfung mit echter Tuberculose zu sehen bekommt, höchstens darin liegt ein Unterschied, dass bei Impfung mit Säugethiertuberkelpilzen die Strahlenpilzformen nach 13 Tagen noch nicht so ausgebildet zu sein pflegen, wie hier.

Demselben Thiere wird am 27. XII., d. h. also am 31. Tage nach der Impfung, ein Theil des zurückgebliebenen Knotens aus der Niere



exstirpirt. Der Rest hat sich entschieden vergrössert und eine mehr käsige, bröcklige, in der Mitte etwas erweichte Beschaffenheit angenommen.

Die mikroskopische Untersuchung ergiebt folgende Verhältnisse. Die Tuberkel haben sich nach zwei Richtungen verändert; die Anzahl echter Langhans'scher Riesenzellen hat entschieden zugenommen, während sich die Epithelioidzellen mehr nach der Peripherie zurückgezogen haben und das Centrum der Tuberkel entweder aus einer homogenen, kernlosen, körnigen Masse (verkäste Substanz) oder aus reichlicher Ansammlung vorwiegend mehrkerniger Leukocyten bestand. Mitunter waren die epithelioiden Zellen zu dem verkästen Centrum pallisadenförmig gestellt. Die Epithelioidzellen selbst unterscheiden sich in mehreren Punkten von denen im 13tägigen Tuberkel. Ein grosser Theil von ihnen ist grösser, augenscheinlich gequollen und mehrkernig, wobei vielfach die Kerne mehr in der Peripherie der Zelle sich zeigen. Eine Zwischensubstanz ist stellenweise deutlich vorhanden, die zum Theil aus glänzenden Balken besteht, die mit Schmaus' Fibrinoid übereinstimmen; echtes Fibrin wurde nicht gefunden. — Auch in diesem Stadium sind deutliche Strahlenpilzherde vorhanden, wenn auch offenbar nicht mehr so reichlich, wie nach 13 Tagen, so dass von einzelnen Stücken zahlreiche Schnitte durchmustert werden müssen, ehe sie gefunden werden. Im Allgemeinen sind die Herde grösser geworden, die Kolben länger und dicker, ohne sich sonst von den 13tägigen zu unterscheiden. Auch sie liegen in Riesenzellen oder von einem Leukocytenkranze umgeben.

Am 8. I. 1899, also nach 42 Tagen, wird demselben Kaninchen der Rest des Tuberkels aus der Niere entfernt. Die käsigen Knötchen sind noch etwas weicher und bröckliger geworden.

Mikroskopischer Befund: Der Bau der Knötchen ist nicht mehr so charakteristisch tuberculös, wie Anfangs; einzelne Knötchen enthalten nur noch wenige Epithelioidzellen und bestehen zum grössten Theil aus ein- und mehrkernigen Leukocyten; die Zahl der Riesenzellen hat abgenommen. In einigen Knötchen hat sich der centrale Theil förmlich abgelöst, so dass zwischen ihm und der aus Epithelioidzellen bestehenden Peripherie eine Lücke vorhanden ist. Andere Knötchen zeigen dagegen noch mehr den Bau, wie er nach 31 Tagen gefunden wurde; in ihren verkästen Partieen liegen vereinzelt kleine Kalkkrümel. Von den Timotheepilzen sind meist nur vereinzelte, gut färbbare Exemplare nachweisbar; dagegen finden sich reichlich sehr unregelmässig vertheilte und gestaltete Krümel in und zwischen den Zellen, die sich nach der Tuberkelbacillenmethode roth färben. In einigen Riesenzellen finden sich unregelmässig gezackte, leicht röthlich gefärbte Klumpen und Schollen; endlich werden auch noch ganz vereinzelt Strahlenpilzherde gefunden, die fast ausschliesslich aus sehr dicken und langen Kolben bestehen und nur im Centrum noch schwach röthlich gefärbte Stäbchen enthalten.

Kaninchen Nr. 15 erhält am 1. XII. 1898 in eine Nierenwunde eine Platinnadelspitze einer 6 Tage alten Kartoffelcultur des Timotheepilzes eingeimpft. Impfstelle nach 9 Tagen (10. XII.) exstirpirt. In der



Niere ein gelblich-weisser, etwa linsengrosser Herd von ziemlich fester Beschaffenheit.

Mikroskopischer Befund: Die Herde bestehen zum grösseren Theil aus einkernigen Rundzellen; in der Peripherie auch einige Epithelioidzellen, von denen einzelne mehrere Kerne enthalten. Langhans'sche Riesenzellen fehlen noch. Die eingeimpften Pilze liegen theils vereinzelt, theils in kleinen Häufchen in und zwischen den Zellen. Auch einige grössere Pilzhaufen vorhanden, in denen schon einzelne Individuen in der Peripherie senkrecht zur Längsaxe des ganzen Herdes gestellt sind; noch nirgends aber typische Strahlenpilzherde mit Kolben.

Kaninchen Nr. 16. 6. XII. 1898 wird einem Kaninchen nach Trepanation unter die Dura eine Platinnadel Timotheepilzcultur eingebracht. Das gleiche Thier erhält in gleicher Sitzung eine Nadelspitze Timotheepilzcultur in die Lebersubstanz eingeimpft, nachdem ein Stückchen Leberlappen durch eine kleine Laparotomiewunde dicht unter dem Processus ensiformis hervorgezogen war. Am 16. XII., also am 11. Tage, wird dem Thiere ein Stückchen Gehirngranulation und ein Stückchen aus der Leberimpfstelle herausgeschnitten. Bei letzterer Operation zeigt sich, dass auch im Netze einige gelbweisse Knötchen vorhanden sind, die auch zum Theil entfernt werden.

Der mikroskopische Befund stimmt in den meisten Punkten mit dem von Kaninchen Nr. 15 überein. Die Knötchen enthalten nur etwas mehr Epithelioidzellen, doch sind auch reichlich einkernige Rundzellen vorhanden. Riesenzellen fehlen. Timotheepilze vereinzelt und in Gruppen in und zwischen den Zellen. Kleine Strahlenpilzherde mit feinen Kölbchen vereinzelt vorhanden; die Kölbchen noch nach der Tuberkelbacillenmethode färbbar. Diese Beschreibung passt sowohl für die Knötchen des Gehirns, wie die der Leber und des Netzes; in der Leber sind nur vereinzelt strahlige Herde, am reichlichsten in der Gehirngranulation.

Das Thier, das zusehends abmagert, wird am 31. XII. früh Morgens, nachdem es schon am Abend vorher einen schwer kranken Eindruck gemacht, todt gefunden. Bei der Section finden sich zahlreiche grössere und kleinere, gelblich-käsige Knötchen und Knoten im Peritoneum, zahlreich auch in der Darmserosa und dem Mesenterium; die mesenterialen und retroperitonealen Lymphknoten stark verkäst. In der Leber neben einem grösseren käsigen Knoten einige kleinere. Die Bauchorgane sonst ohne Abnormitäten; ebenso die Brustorgane im Wesentlichen normal. An der Impfstelle unter der Dura ein über linsengrosser, käsiger, in die Gehirnsubstanz eindringender Herd. Aus allen Herden können Timotheepilze leicht gezüchtet werden, die im Ganzen ebenso wachsen, wie die Originalculturen.

Das mikroskopische Bild der verkästen Herde weicht von den Befunden am 11. Tage erheblich ab. Fast alle Herde zeigen ausgedehnte Verkäsung und im Ganzen den Bau, wie er in Fig. 19 aus einem subserösen



Tuberkel des Dünndarmes abgebildet ist. Man sieht hier ein verkästes Centrum, an das sich eine Schicht epithelioider Zellen anschliesst, zwischen welche aus der Peripherie Leukocyten eingewandert sind. In anderen Tuberkeln, besonders der Leber, aber auch des Dünndarmes, besteht das kernlose Centrum nicht aus einer krümeligen (käsigen) Masse, sondern aus glänzenden, homogenen Schollen und Balken von hyaliner Beschaffenheit, an die sich im Uebrigen eine Schicht von Epithelioid- und Rundzellen in typischer Weise anschliesst. Die Timotheepilze liegen vielfach in den hyalinen Partieen vereinzelt und in kleinen Zügen und Strängen, theils körnig, theils mit kleinen Anschwellungen versehen. In den zellreicheren Partieen kann man überall (sowohl im Gehirn, wie in Leber, Darm, Mesenterium und Lymphknoten) kleine Strahlenpilzherde mit langen, aber meist nur schmalen Kolben nachweisen, von denen einige noch bei Färbung nach Ziehl-Neelsen roth gefärbt werden, die meisten aber ungefärbt erscheinen. — In den Gehirngranulationen zahlreiche verkalkte Kugeln.

2. Intraarterielle Impfung.

Die Impfungen werden ganz in derselben Weise vorgenommen, wie es in der Arbeit von Hrn. Schulze für die Tuberkelpilzinjectionen beschrieben wurde. Am 21. I. 1899 erhält Kaninchen Nr. 17 1 ^{ccm} einer Timotheepilzaufschwemmung von der Carotis aus in's Herz injicirt. Bei dem Thier, dem früher schon Vogeltuberkelpilze unter die Dura geimpft waren, bildet sich zunächst einige Tage nach der Injection eine vorübergehende Lähmung der vorderen Extremitäten aus, worauf eine Unfähigkeit, den Kopf gerade zu halten, eintritt; der Kopf wird vielmehr dauernd nach links und unten verdreht, eine Stellung, die auch immer wieder eingenommen wird, wenn künstlich der Kopf gerade gestellt ist.

Am 2. II. wird durch Schnitt unterhalb der 12. Rippe die Niere freigelegt und durch die Wunde an die Oberfläche gedrängt. Schon unter der Kapsel sieht man zahlreiche hirsekorngrosse, weisse und gelbliche Knötchen an der Oberfläche, an denen zum Theil die Kapsel ziemlich fest anhaftet. Zwei solche Tuberkel werden herausgeschnitten.

Der mikroskopische Befund gleicht durchaus den bei Kaninchen Nr. 14 am 13. Tage constatirten Verhältnissen. Typische Tuberkel mit Epithelioid- und Riesenzellen. Sehr schöne Strahlenpilzherde mit langen, mitunter etwas spitzen Kolben. Eine Doppelfärbung dieser Herde gelingt in sehr einfacher Weise durch Färbung der Schnitte mit Hämatoxylin (5 Minuten) und Nachfärbung nach von Gieson (1 Min.). Dabei erscheinen die stark gekörnten Stäbchen granatroth, die Kolben intensiv gelb, wie es in Fig. 14a abgebildet ist. Bei dieser Färbung tritt sehr schön hervor, dass ein röthlicher bacillärer Faden in die Kolben hineingeht, wie es bekanntlich auch bei dem eigentlichen Aktinomyces



der Fall ist. Um die Herde herum, wie es Fig. 14a zeigt, zahlreiche mehrkernige Leukocyten; einzelne liegen auch in Riesenzellen.

Demselben Thier wurden am 11. II., also nach 21 Tagen, wiederum zwei Tuberkel aus der linken Niere herausgeschnitten. Die Tuberkel sind nicht auffallend grösser geworden, die ganze Niere aber entschieden vergrössert. Der mikroskopische Befund ist im Grossen und Ganzen der gleiche, wie nach 12 Tagen; nur ist an einigen Tuberkeln schon Verkäsung und stärkere Leukocyteneinwanderung eingetreten. Strahlenpilzherde sind noch reichlich vorhanden, ihre Kolben länger und dicker, im Uebrigen unverändert. Die Epithelioidzellen der Tuberkel sind häufig gequollen und mehrkernig, Langhans'sche Riesenzellen ziemlich reichlich vorhanden.

Am 21. II. wird wiederum ein Tuberkel aus der linken Niere entfernt. Jetzt fällt deutlich auf, dass einige Knötchen eher kleiner geworden sind und um ihr gelbes Centrum einen grauen Hof besitzen. Mikroskopisch bestehen die Tuberkel, die zum Theil von einer bindegewebigen Kapsel umgeben sind, fast ausschliesslich aus sehr grossen gequollenen Epithelioid- und vielkernigen Riesenzellen, die in ihrem Innern zahlreiche Kugeln und Krümel, sowie unregelmässig gestaltete und gezackte Gebilde enthalten, die sich nach Ziehl-Neelsen roth färben. Timotheepilze sind nur ganz vereinzelt zu finden, im Uebrigen noch gut färbbar; an Strahlenpilzherden wird in dem ganzen, in Serienschnitte zerlegten Tuberkel nur ein länglich gestreckter mit sehr langen Kolben gefunden.

Am 6. März wird dem Thiere die linke Niere exstirpirt. Sie ist im Ganzen erheblich vergrössert, von weicher Consistenz und auf dem Durchschnitt sehr feucht und blutreich. An der Oberfläche sind noch zahlreiche gelbe Knötchen vorhanden, von denen einzelne in grauen, etwas eingezogenen Narben (den Extirpationstellen der früheren Versuche) gelegen sind. Auf dem Durchschnitt sieht man, dass zahlreiche Tuberkel als gelbe Streifen bis in die Marksubstanz hineinreichen. Schneidet man sie ein, so entleert sich aus einzelnen ein gelblich weisser Brei, der einige festere, stecknadelspitzgrosse Körnchen enthält, die unter dem Mikroskop als typische Aktinomycesdrusen erscheinen.

Die mikroskopische Untersuchung ergiebt an den verschiedenen Knötchen verschiedene Resultate. Die in der Rinde gelegenen bestehen fast ausschliesslich aus grossen, gequollenen mehrkernigen Epithelioidzellen, zwischen denen vereinzelt auch Riesenzellen und mehrkernige Leukocyten liegen. Das Centrum der Herde besteht meist aus einer homogenen, körnigen, verkästen Masse oder aus einer mächtigen Ansammlung von Leukocyten. Strahlenpilzherde wurden in ihnen nicht gefunden, Stäbchen

auch nur vereinzelt. Dagegen sind reichlich in den Zellen allerlei Bröckel und unregelmässig gestaltete Klumpen zu finden, die sich nach Ziehl-Neelsen roth, nach Weigert blau färben; auch Pigmentkörnchen finden sich in den Zellen. — Die Structur der in der Marksubstanz gelegenen Herde ist dagegen eine abweichende, insofern die Epithelioidzellen zum grössten Theil durch Rund- und Eiterzellen verdrängt sind, welche den grössten Theil der Herde ausmachen. In diesem Theile liegen dann die Strahlenpilzdrusen oft in grösserer Zahl, z. B. in einem Herde 3 oder 4. Sie zeichnen sich dadurch aus, dass sie im ungefärbten Zustande eine gelblich-braune Farbe besitzen, theils rundlich, theils länglich sind und ganz besonders lange und dicke Kolben aufweisen, die den Durchmesser der in Fig. 14a abgebildeten um gut das Doppelte übertreffen. Diese Herde unterscheiden sich eigentlich von den bei menschlicher Aktinomykose vorkommenden gar nicht mehr, da auch das strahlenförmige, bezw. fädige Centrum nicht mehr die Tuberkelbacillenfärbung annimmt. Nach dieser Methode gefärbt, erscheinen die mächtigen Kolben blau oder einzelne rosa und die Stäbchen ebenfalls blau oder ganz leicht roth. Einzelne Herde bestehen fast ausschliesslich aus Kolben, wie das bei Aktinomykose der Rinderzunge so häufig der Fall ist. — Um jeden Herd findet sich auch hier ein Kranz von Leukocyten.

Am 7. März, also nach 45 Tagen stirbt das Thier. Bei der Section findet sich die rechte Niere ebenso verändert, wie die linke. In der Leber einige etwa stecknadelkopfgrosse graue und gelbe Knötchen und nach dem Rande des linken Lappens zu ein erbsgrosser käsiger Herd, in dessen Bereich das Netz mit der Leberoberfläche verwachsen ist. In der Lunge einige kleine gelbliche Knötchen. Im Gehirn, an der Stelle, wo früher Vogeltuberkulose verimpft war, ein über erbsgrosser, bis dicht an den Ventrikel reichender käsiger Herd; ausserdem noch zahlreiche kleine graue Knötchen in der Gehirnrinde.

Die mikroskopische Untersuchung hatte folgendes Ergebniss. Der Befund in der rechten Niere stimmt mit dem der linken Niere vom 6. III. völlig überein, so dass nähere Schilderung überflüssig. Die Leberherde stimmen ebenfalls sehr mit den in der Niere gelegenen überein; die kleineren, die vielfach in Aesten der Art. hepatica gelegen sind, bestehen fast ausschliesslich aus stark gequollenen Epithelioidzellen, in denen auch zahlreiche Pigmentkörner vorhanden sind, neben den oben beschriebenen Bröckeln und Schollen. Stäbchen sind nur noch ganz vereinzelt vorhanden. Im grösseren Herd finden sich Riesenzellen und vereinzelte Strahlenpilzherde, sowie centrale Erweichung. In der Lunge sind die kleineren Herde zum Theil deutlich verkäst, zum Theil mehr erweicht und in Einschmelzung begriffen; Stäbchen vereinzelt vorhanden; keine Strahlenpilzherde. — Im Gehirn lassen sich in den Granulationen, die an der ersten Impfstelle sich ausgebildet haben, noch Vogeltuberkelpilze in kleinen Häufchen nachweisen. Timotheepilze

sind nicht sehr reichlich vorhanden, einige Strahlenpilzherde vorhanden. Was das Histologische anbetrifft, so überwiegen auch hier grosse Rundzellen und Leukocyten an vielen Stellen, während an anderen mehr die grossen, gequollenen Epithelioidzellen vorherrschen. — Die kleineren Tuberkel der Gehirnrinde sitzen meist dicht an kleinen Capillaren und bieten theils das Bild reiner Epithelioidzellentuberkel, theils das verkäster kleinzelliger Tuberkel dar; in ihnen vereinzelt kleine Strahlenpilzherde.

Ueberblicken wir die Resultate dieser Versuche, welche, wenn sie auch nur an im Ganzen 4 Thieren angestellt wurden, doch 11 verschiedene Stadien umfassen, so sehen wir, dass bezüglich der Bildung von Strahlenpilzherden die Verhältnisse völlig mit dem übereinstimmen, was wir bei der Tuberculose kennen gelernt haben. Ihr Bildungsmodus geht in gleicher Weise vor sich; zuerst treten nur kleine, kurze und mehr spitze Kolben in der Peripherie auf, die sich allmählich auf Kosten der centralen Partieen zusehends vergrössern und schliesslich fast allein die Herde zusammensetzen. Auch darin besteht Uebereinstimmung, dass die Säure- und Alkoholbeständigkeit der kolbigen Fortsätze mit zunehmendem Alter immer mehr schwindet und einer ausgesprochenen Metachromasie Platz macht. Diese Erscheinung ist bei den Timotheepilzen noch ausgeprägter und vollständiger, wie bei den Tuberkelpilzen, indem selbst die centralen Stäbchen und Fädchen schliesslich die Fähigkeit, die Tuberkelbacillenreaction zu geben, verlieren und dadurch vollständig mit den eigentlichen Aktinomycespilzen übereinstimmen. Diese Uebereinstimmung ist endlich so gross, dass es in den erweichten Knötchen sogar zur Bildung kleiner, mit blossem Auge sichtbaren Körnchen kommt, die nur aus den Pilzdrusen und anhaftenden Eiterzellen bestehen. Hierin, sowie in der Zeit des Auftretens der Strahlenpilzherde, liegt der einzige, übrigens wenig erhebliche Unterschied gegenüber den Strahlenpilzherden der Tuberkelpilze. Während sich diese nach unseren Beobachtungen frühestens etwa um den 13. Tag herum, meist aber erst um den 15. bis 17. Tag bilden, geschieht dies bei den Timotheepilzen, wie es scheint, regelmässig etwas früher, nämlich zwischen dem 10. und 12. Tage.

Was die histologischen Verhältnisse anbetrifft, so sind sie insofern von grossem Interesse, als die durch Timotheepilze hervorgebrachten Veränderungen beim Kaninchen fast völlig mit echten Tuberkeln übereinstimmen. Wenn Möller sich dahin ausgesprochen hat, dass von allen Pseudotuberkelpilzen die Timotheepilze „den Koch'schen Bacillen am nächsten stehen", so möchte ich dem völlig beistimmen, soweit es sich um das Verhalten im Thierkörper handelt, während freilich in Bezug auf die Form der einzelnen Stäbchen und die Art des Wachthums auf den



meisten Nährböden nach meiner Messung die Butterbacillen von Lydia Rabinowitsch den Tuberkelpilzen mehr gleichen, als die Timotheepilze.

Was aber die Knötchenbildungen dieser Mikroben im Kaninchenkörper anbetrifft, so möchte ich die Uebereinstimmung mit echten Tuberkeln für geradezu verblüffend erklären, und zwar in allen ihren Stadien. Wenn nach den Angaben von Kretz (citirt bei Möller) beim Meerschweinchen die Timotheepilze Granulationen mit Neigung zur puriformen Einschmelzung und Verfettung bilden, so trifft das für den Kaninchenkörper viel weniger zu; hier ist vielmehr das gewöhnliche Schicksal der Knötchen die Verkäsung, wie bei der Tuberculose; aber auch in der Anordnung, in der Häufigkeit der Riesenzellenbildung ist die Uebereinstimmung eine vollkommene — vielleicht mit dem einzigen Unterschiede, dass die einzelnen Stadien bei den Timotheepilztuberkeln etwas rascher ablaufen, als in echten Tuberkeln. Aber auch diese Unterschiede sind so geringfügig, dass z. B. der in Fig. 19 abgebildete, 25 Tage alte Thimotheepilztuberkel der Darmserosa bis in die kleinsten Einzelheiten mit einem ebenfalls 25 Tage alten Darmserosatuberkel von Kaninchen Nr. 20 (vgl. die Arbeit von Schulze, S. 153) übereinstimmte. Darüber kann jedenfalls kein Zweifel herrschen, dass es völlig unmöglich ist, durch die histologische und mikroparasitäre Untersuchung — selbst wenn man das Alter der betr. Producte kennt — Timotheepilztuberkel von echten Tuberkeln mit Sicherheit zu unterscheiden. Ausschliesslich durch die Cultur kann die Unterscheidung gebracht werden. Eine andere Frage ist es, ob dies auch für andere Thiere, als Kaninchen, gilt. Beim Meerschweinchen scheinen die Verhältnisse schon etwas anders zu liegen und für den Menschen scheint der Timotheepilz nur geringe Virulenz zu besitzen. Völlig gleichgültig ist er freilich auch für diesen nicht. Ich impfte mich selbst mit einer frischen Cultur am Unterarm, indem ich theils nach vorausgegangener Skarification Culturmaterial in die Haut einbrachte, theils in eine kleine, mit der Scheere angelegten Hauttasche Culturbröckel einimpfte. Es bildeten sich an allen Stellen im Verlauf von 8 bis 10 Tagen kleine rundliche Erhebungen von Anfangs fester Consistenz und röthlicher Farbe aus. Als ich sie am 11. Tage exstirpiren liess, wobei der Chirurg zunächst die Diagnose auf Leichentuberkel stellte, erschien die histologische Structur doch anders, als ich erwartet. Es war weniger das Bild eines Tuberkels, als einer diffusen, hauptsächlich an die Schweissdrüsen anschliessenden entzündlichen Wucherung, in der nur noch wenig Stäbchen und keine Strahlenpilzherde gefunden wurden. Es ist aber immerhin möglich, dass bei anderer Versuchsanordnung und Untersuchung verschiedener Stadien auch beim Menschen andere Verhältnisse sich ergeben würden. —



Was nun die von Möller ja bereits kurz berührte Frage anbetrifft, in welcher Beziehung die Timotheepilze zu den Tuberkelpilzen stehen, so kann ich sie hier nur streifen. Dass die Timotheepilze nach längerem Verweilen im Thierkörper den Tuberkelpilzen ähnlicher wachsen, wie Möller angiebt, habe ich nicht ganz bestätigen können. Richtig ist allerdings, dass die nach einiger Zeit aus den Kaninchenorganen gewonnenen Pilze sehr viel langsamer wuchern, wie das besonders in meinen Versuchen nach 6wöchentlichem Aufenthalte im Kaninchenkörper eclatant war, aber sie unterscheiden sich doch vor Allem stets durch die intensive Farbstoffbildung. Immerhin ist es nicht gerade wahrscheinlich, dass keine genetischen Beziehungen zwischen beiden Pilzarten bestehen und sie nicht wenigstens Abkömmlinge einer Stammform sind. Ueber diese Frage können aber nur sehr sorgfältige und lange fortgesetzte Untersuchungen grössere Klarheit verschaffen, die wir hoffentlich von Dr. Möller zu erwarten haben.

B. Möller's Mistpilz.

Ausser dem Timotheepilz hat Möller auch im Mist von Kühen einen zweiten säure- und alkoholfesten Mikroorganismus gefunden, der in zahlreichen Eigenschaften mit dem Timotheepilz übereinstimmt. Auch dieser Mikroorganismus ist sicher weit verbreitet, denn ich habe ihn ebenfalls in den Entleerungen hiesiger Kühe mikroskopisch nachweisen können, wenn ich ihn auch nicht gezüchtet habe. Die Culturen verdanke ich erst der grossen Freundlichkeit des Hrn. Collegen Möller, dem ich meinen besten Dank dafür auch hier aussprechen möchte. — Da Möller bisher über die Unterschiede zwischen dem Mist- und Timotheepilz noch nichts Genaues angegeben hat, so will ich kurz das anführen, was für eine Trennung beider nahverwandter Arten Ausschlag gebend ist. Während auf Agar beide Pilze sehr gleichartig wachsen, unterscheidet sich der Mistpilz sehr deutlich bei der Züchtung in verdünnter Bouillon und auf Gasperini'schem Mehlkuchen. Die Bouillon wird nämlich durch den Mistpilz niemals diffus getrübt, die Colonieen finden sich vielmehr ausschliesslich am Boden des Reagensglases; auf Gasperini's Mehlkuchen wächst der Timotheepilz üppig, der Mistpilz sehr spärlich. Als weiterer Unterschied sei noch notirt, dass der Mistpilz seltener ausgeprägte echte Verzweigungen bildet. Endlich stimmt er auch in Bezug auf sein Verhalten im Kaninchenkörper nicht ganz mit dem Timotheepilz überein. Die von ihm nach localer Einimpfung in die Niere erzeugten Producte gleichen nämlich echten Tuberkeln weniger, indem in den Knötchen grosse einkernige Zellen reichlicher vorhanden sind, als Epithelioidzellen. Auch zur Bildung richtiger

Strahlenpilzherde kommt es früher, indem schon nach 6 Tagen typische strahlige Herde mit Kolben gefunden werden (Fig. 15). Da es sich für mich zunächst nur darum handelte, festzustellen, ob auch beim Mistpilz Strahlenherde vorkommen, so genügten mir zwei Versuche an Kaninchen, denen Mistpilzmaterial direct in eine Nierenwunde eingeimpft wurde. Dem einen Thiere (Kaninchen Nr. 18) wurde nach 6, dem anderen (Kaninchen Nr. 19) nach 8 Tagen die Impfstelle entfernt. In beiden Fällen fanden sich Strahlenpilzherde mit Kolben, in typischer Weise theils in Riesenzellen liegend, theils von Leukocyten umgeben, vor. Sie unterschieden sich von denjenigen der sonst beobachteten Fälle vor Allem dadurch, dass bei der Färbung nach Birch-Hirschfeld die Fäden nur schwach und mehr bräunlich sich färbten und auch nur ein Theil der Kolben ausgesprochen violette Färbung annahm.

C. Möller's Graspilz II.

Es handelt sich hier um einen Mikroorganismus, den Möller ebenfalls aus Gräsern isolirt, über den er aber noch keine weiteren Mittheilungen gemacht hat.[1] Da mir Hr. College Möller freundlichst eine Cultur übersandte, will ich mit Einverständniss des Entdeckers einige Angaben über diesen Mikroben machen, soweit es für die Strahlenpilzfrage von Interesse ist. — Der ebenfalls sehr säure- und alkoholbeständige Pilz bildet auf den meisten Nährböden Stäbchen, die länger und dicker, wie Tuberkelpilze sind. Im Gegensatz zu den meisten Strahlenpilzen bildet er auf Agar keine trockenen, körnigen Beläge, sondern einen saftigen, weichen, zusammenhängenden Belag, der in den ersten Tagen farblos wächst, allmählich aber einen intensiv gelben Farbenton annimmt. Auf der Kartoffel und dem Gasperini'schen Mehlkuchen ist das Wachsthum ein ausgebreitetes und schnelles, hier werden aber weniger feuchte Ueberzüge gebildet; auf dem Mehlkuchen sind sogar richtige trockene Schuppen und Bröckel vorhanden. Die Bouillon wird diffus getrübt und an der Oberfläche eine Haut gebildet; im Uschinsky'schen Nährboden ist das Wachsthum ein eigenthümliches, indem grosse Flocken und Fäden gebildet werden, ohne allgemeinere Trübung des Nährbodens. — Mikroskopisch enthalten die Culturen grösstentheils lange Stäbchen, die entschieden dicker sind wie Tuberkelstäbchen und sowohl eine Neigung zur Körnerbildung, wie zur Entstehung kleiner endständiger Anschwellungen und Keulen besitzen. Auf Glycerinagar und gewöhnlichem Agar, mitunter auch

[1] Anmerk. bei der Correctur. Inzwischen ist eine Mittheilung von Möller erschienen: Ein neuer säure- und alkoholfester Bacillus aus der Tuberkelbacillengruppe u. s. w. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXV. S. 369.



Die nach 4 und 5 Wochen aus der Niere exstirpirten Herde zeigen dasselbe Resultat, wie bei Kaninchen Nr. 1. Das Thier stirbt $2^1/_2$ Monate nach der Injection; zahlreiche Tuberkel in Niere, Gehirn und Lunge; spärlich in Milz und Leber. Strahlenpilzherde werden nicht mehr gefunden.

Im Wesentlichen hatte dieser Versuch also das gleiche Ergebniss, wie ähnliche Versuche mit Säugethiertuberculose. Auch hier liess sich durch die zu verschiedenen Zeiten vorgenommene Untersuchung die Längen- und Dickenzunahme der Kolben feststellen. Bemerkenswerth ist auch, dass in den Tuberkeln von 40 Tagen die Kolben nicht mehr ausgesprochen acidophil, sondern mehr basophil waren.

2. Locale Impfungen in die Niere.

Nachdem einige Versuche gezeigt hatten, dass jedenfalls nach 15 bis 18tägigem Verbleiben der Vogeltuberkelpilze in der Kaninchenniere noch keine Strahlenpilzformen auftreten, wurden in weiteren Versuchen erst am 20. und 22. Tage die Impfstellen aus der Niere entfernt. Auch hier war das Resultat zunächst negativ und erst als ein Tuberkel vom Kaninchen 5 (Excision des Tuberkels nach 22 Tagen) vollständig in Serienschnitte zerlegt war, wurden einige kleine und recht flache Strahlenpilzherde mit Keulen gefunden. Reichlicher waren sie dagegen bei Kaninchen 6 vorhanden, dem an zwei verschiedenen Stellen der rechten Niere Culturmaterial eingebracht und ein Herd nach 27 Tagen exstirpirt war. Hier fanden sich zahlreichere typische Herde, auch wieder von Leukocyten oder Riesenzellen umgeben. In dem zweiten, erst nach 40 Tagen herausgeschnittenen Herd waren die Strahlenpilzherde entschieden spärlicher vorhanden, die Kolben hatten aber an Umfang zugenommen. Einige zeigten im Centrum beginnende Verkalkung; bei anderen bestand das Centrum der Drusen theils aus Fäden mit kleinen Zweigen, theils aus körnig zerfallenen Stäbchen.

Es ergiebt sich somit aus diesen Untersuchungen, dass die Pilze der Vogeltuberculose alle diejenigen Eigenschaften besitzen, welche oben als Characteristica der Strahlenpilze angegeben wurden, sodass wir kein Bedenken haben konnten, sie als echte Strahlenpilze zu bezeichnen.

B. Durch Aufenthalt im Froschkörper modificirte Tuberkelpilze.

Bei den Untersuchungen über die Strahlenpilzformen der Säugethiertuberkelpilze impften wir zur Lösung der Frage, ob die Kolbenbildungen reine Degenerationserscheinungen seien, wiederholt Tuberkelpilze in den Lymphsack von Fröschen. Wir konnten dabei feststellen, dass die Tuberkelmikroben vom Lymphsack aus rasch in die inneren Organe gelangen, wo sie in Milz, Leber, Lungen und Nieren, meist in kleinen Häufchen gelegen, schon nach 8 bis 10 Tagen gefunden werden, aber auch noch

nach 2 bis 3 Monaten nachweisbar sind, ohne dass erhebliche morphologische Veränderungen an ihnen nachweisbar wären. Keulenbildungen fehlen völlig, ebenso wenig ist von erheblicher Reaction des Gewebes um die Pilze etwas zu merken. — Als ich von einem Frosch, der acht Wochen lang Tuberkelpilze in seinen Organen beherbergt hatte, einen aus Milz, Leber und Niere bereiteten Gewebsbrei Meerschweinchen in die Bauchhöhle spritzte, zeigte es sich, dass die Thiere auch nach sechs Wochen noch nicht an Tuberkulose erkrankten, und das führte dazu, das biologische Verhalten der in den Froschlymphsack geimpften Tuberkelpilze näher zu untersuchen.

Ueber das Verhalten von Tuberkelpilzen im Organismus von Fröschen liegen bisher nicht völlig übereinstimmende Angaben vor. De Pasquale[1] und de Michele[2] berichteten, dass Frösche und andere Kaltblüter (wie Tritonen, Schlangen, Fische) völlig immun gegen Tuberculose seien, bei welcher Temperatur sie auch gehalten würden, dass die Tuberkelpilze sich aber in ihren Körpern lange erhielten, ohne die Virulenz für Warmblüter zu verlieren oder sonst wie abgeändert zu werden. Bataillon und Terre[3] geben dagegen an, dass es ihnen gelungen sei, Säugethier- und Hühnertuberculose mittels Passage durch Kaltblüter in eine saprophytische (bei gewöhnlicher Temperatur wachsende) Form umzuwandeln; schon nach 11 bis 14 tägigem Aufenthalt im Froschkörper wurde dies erreicht. — Meine eigenen Versuchsergebnisse stimmen weder mit denen von Pasquale und Michele, noch mit denen von Bataillon und Terre völlig überein. Wurden die Mikroben nur etwa 2 bis 3 Wochen im Froschkörper gelassen, so waren sie noch in allen Organen infectionstüchtig für Meerschweinchen und züchtbar; nach 6 bis 8 Wochen erwies sich aber bereits Organbrei als nicht mehr infectiös, obgleich die Züchtung aus Leber und Niere noch gelang, wobei es schon auffiel, dass die Tuberkelpilze verhältnissmässig leicht wuchsen und vor allem nicht so empfindlich gegen Temperaturschwankungen waren, wie das die aus den Säugethierkörpern gezüchteten Tuberkelpilze zu thun pflegen. Nach $2^3/_4$ Monaten erhielt ich endlich aus der Milz eines Frosches Culturen, die am besten bei etwa 28 bis 30° wuchsen, üppig gediehen, sich aber im Uebrigen nicht von gewöhnlichen Tuberkelculturen unterschieden; nur wurden besonders in Culturen auf eiweissfreien Nährböden reichlicher echte Verzweigungen und Kolbenformen gefunden.

[1] Della varietà di tuberculosi negli animali a sangue freddo. *Morgagni.* Febr. 1894.

[2] de Michele. *Ebenda.* 1894. Nr. 2.

[3] La forme saprophytique de la tuberculose humaine et de la tuberculose aviaire. *Compt. rend. de l'acad. des sciences.* 1897. p. 1399.



Die mit diesen Culturen an Kaninchen vorgenommenen Versuche hatten nun das Ergebniss, dass zunächst wenigstens keine reichlichere Entwickelung der eingebrachten Mikroben stattfand. Kaninchen 7, dem Culturmaterial in die Niere eingebracht war, zeigte zwar nach 28 Tagen einen käsigen Herd in dem Organ, der aber histologisch mehr dem Bilde entsprach, das man bei Einimpfung todter Tuberkelpilze erhält. Die eingebrachten Mikroben lagen in grossen Haufen, deren einzelne Stäbchen theils nur schwach, theils überhaupt nicht mehr färbbar waren; Strahlenpilzformen wurden ganz vereinzelt und sehr schlecht ausgebildet, d. h. mit kleinen, dünnen, knopfartigen Anschwellungen versehen gefunden. Als ich mit diesem Material ein Meerschweinchen interperitoneal impfte, erwies es sich nach sechs Wochen als tuberculös; die hieraus gewonnenen Culturen waren wieder völlig normal und erzeugten typische Strahlenpilzherde bei Kaninchen. Ebenso adaptirte sich die Anfangscultur beim Weiterzüchten wieder höheren Temperaturen und verhielt sich demgemäss bei weiteren Experimenten ganz wie gewöhnliche Tuberkelpilze. — Jedenfalls zeigten bereits diese Versuche, dass die Tuberkelpilze im Körper von Kaltblütern derartig modificirt werden können, dass sie leichter wachsen, sich den äusseren Temperaturen mehr anpassen und in ihren Culturen häufiger echte Verzweigungen bilden. In viel vollendeterer Weise ist eine derartige Modification bekanntlich Möller gelungen, durch Uebertragung von Tuberkelculturen auf Blindschleichen.

C. Durch Aufenthalt im Blindschleichenkörper modificirte Tuberkelpilze.

Möller hat in einem auf der Düsseldorfer Naturforscherversammlung gehaltenen Vortrag[1] berichtet, dass er aus der Milz mit Sputum Tuberculöser geimpfter Blindschleichen Tuberkelpilzculturen erhielt, die bereits bei 20° gut gediehen. Herr Dr. Möller war so freundlich, mir eine seiner Culturen zu überlassen, die in der That von grossem Interesse war. Die Culturen weichen nämlich in erheblichster Weise von denen der Säugethiertuberculose ab, indem sie anstatt der bekannten trockenen und krümeligen Vegetationen einen feuchten, glänzend weissen, glatten Ueberzug auf der Agaroberfläche bilden. Bei einer Temperatur von 28 bis 37° gehalten, wachsen sie überhaupt nicht, während sie bei Zimmertemperatur gut und bei ca. 22° rasch gedeihen. Morphologisch unterscheiden sie sich von den gewöhnlichen Tuberkelpilzen nicht, nur bildeten auch sie in verdünnter Bouillon und eiweissfreien Nährböden, mitunter auch auf Agar reichlicher echte Verzweigungen. — Die mit diesen Culturen angestellten Versuche an Kaninchen hatten folgendes Ergebniss: Bei den unter die

[1] Ueber dem Tuberkelbacillus verwandte Mikroorganismen. *Therap. Monatsh.* Nov. 1898.



Dura und in Niere geimpften Kaninchen (Nr. 8 und 9) entwickelten sich zwar auch käsige Herde, die aber in jeder Beziehung mit dem übereinstimmten, was oben über die Wirkung der aus dem Froschkörper isolirten Tuberkelpilze angegeben wurde. Sie enthielten nur wenig Riesen- und Epithelioidzellen, vorwiegend Eiter- und einkernige Rundzellen. Die in ihnen reichlich vorhandenen Tuberkelpilze lagen meist vereinzelt, vielfach in Zellen oder von ihnen umschlossen; wo sie in grösseren Gruppen lagen, war die Hauptmasse der Stäbchen zerfallen und kaum noch färbbar. Selbst nach ca. 4 Wochen waren nur spärlich richtige Strahlenpilzformen zu finden oder wenigstens nur Herde mit kleinen knopfförmigen Anschwellungen, von denen auch die Mehrzahl der Stäbchen und Fäden schlecht färbbar waren, wodurch die ganzen Herde einen verwaschenen Eindruck machten. Nach 6 Wochen fanden sich in diesen noch einige Herde, die zum grössten Theile aus kurzen Kolben bestanden, während das Centrum aus zerfallenen und kaum noch färbbaren Stäbchen gebildet wurde. — Versuche, durch mehrfache Passage durch den Kaninchenkörper die Pilze der Blindschleichentuberculose wieder in ihre ursprüngliche Form zurückzuführen, haben bis jetzt zu keinem positiven Resultate geführt. — Es geht hieraus und aus den anderen Angaben hervor, dass die Tuberkelpilze im Blindschleichenkörper sehr viel energischer und dauerhafter modificirt werden, wie im Froschkörper. Ob das nun an einer so zu sagen specifischen Wirkung des Blindschleichenorganismus liegt, oder an dem sehr viel längeren Aufenthalt — nach Mittheilung von Professor Kobert blieben die Tuberkelpilze 1 Jahr lang im Blindschleichenkörper — kann vorläufig noch nicht entschieden werden.

D. Pilze der Fischtuberculose.

Im Jahre 1897 haben Bataillon, Dubard und Terre[1] die Mittheilung gemacht, dass sie aus einem Tumor an der Bauchwand eines Karpfens Mikroorganismen züchten konnten, die sich in vieler Beziehung als übereinstimmend mit den Koch'schen Tuberkelerregern erwiesen. Der Unterschied lag hauptsächlich darin, dass die Mikroben schon bei niedriger Temperatur — selbst noch bei 12°, am besten bei ca. 22° — wuchsen. Dass es sich hier um durch den Aufenthalt im Fischkörper modificirte Tuberkelpilze handle, suchten die Verfasser durch die bereits oben kurz erwähnten Versuche nachzuweisen; in wie weit ihnen das gelungen ist, darauf will ich hier nicht ausführlicher eingehen; nach meiner Meinung sprechen die oben erörterten Erfahrungen von mir und Möller, vor Allem aber auch die Beschaffenheit der Culturen sehr dafür. Eine Cultur, die

[1] Un nouveau type de tuberculose. *Compt rend. de la société de biolog.* 1897. p. 446.



ich von dem Kral'schen Laboratorium in Prag bezogen, unterschied sich in Agarculturen in keiner Weise von den Culturen der Säugethiertuberculose; auch auf den meisten anderen Nährböden stimmte sie mit ihnen überein, am ehesten wich sie noch auf Kartoffeln ab. Wie schon Bataillon, Dubard und Terre angeben, sind in 9 bis 10 Tage alten Agar- oder Serumculturen reichlich verzweigte Formen vorhanden. — Versuche an Kaninchen (Nr. 10 und 11) mit subduraler und intrarenaler Impfung hatten fast dasselbe Ergebniss, wie oben für die Blindschleichentuberkelpilze ausgeführt; nur wurden auch nicht einmal Andeutungen von Strahlenpilzherden gefunden; in den Granulationen lagen die Pilze meist vereinzelt, waren sehr kurz, aber gut färbbar. Es hatte jedenfalls keine Spur einer Vermehrung stattgefunden, was auch damit stimmt, dass bei Temperaturen über 28° im Brütschranke kein Wachsthum der Pilze zu erzielen war.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind nach mehreren Richtungen hin bemerkenswerth. Zunächst bestätigen sie die schon von Hrn. Schultze ausgesprochene Ansicht, dass die Strahlenpilzformen der Tuberkelpilze keine reinen Degenerationsformen sind. Wäre das der Fall, so müssten sie eigentlich dann am reichlichsten auftreten, wenn die Mikroben unter besonders ungünstige Verhältnisse gelangen. Aber das ist keineswegs der Fall; denn wir sehen gerade in allen Fällen, wo die Existenzbedingungen total ungünstige sind, keine erheblichen Veränderungen an den Mibroben auftreten, sei es nun, dass an höhere Temperaturen angepasste Tuberkelpilze (Pilze der Säugethier- und Hühnertuberculose) in den Körper von Kaltblütern oder an den Körper von Kaltblütern angepasste Tuberkelpilze (Frosch-, Blindschleichen- und Fischtuberkelpilze) in den Organismus von Warmblütern verpflanzt werden. Damit stimmt auch die Thatsache, dass auch an todten Tuberkelbacillen, wenn sie in die Kaninchenniere eingeimpft werden, keine typischen Kolbenbildungen auftreten. Zwei derartige Versuche hatten folgendes Resultat.

Kaninchen Nr. 12 erhält am 19. II. durch Formoldämpfe getödtete Tuberkelpilze in die Niere; nach 16 Tagen (7. III.) wird die Impfstelle exstirpirt. Histologisch stimmt der käsig aussehende Herd im Allgemeinen mit dem überein, was bei Impfung von Blindschleichen- und Fischtuberculose beobachtet wurde. Die in Haufen liegenden Tuberkelpilze zeigen viele schlecht färbbare Exemplare; an einer Stelle findet sich auch ein im Ganzen verwaschener Herd mit kleinen knopfförmig angeschwollenen peripheren Strahlen.

Kaninchen Nr. 13 erhält am 10. II. von derselben Cultur in die Niere geimpft; am 30. Tage Theile der Impfstelle exstirpirt (11. III.). Befund wie im vorigen Falle, nur wurden strahlige Herde mit Anschwellungen ganz vermisst. — Der Rest der Impfstelle wird am 5. April, also nach 55 Tagen, entfernt. Es finden sich noch schlecht färbbare Tuberkelbacillen vor; Strahlenpilzherde nirgends vorhanden.



Es zeigen also auch diese Versuche, dass die Bildung der typischen Strahlenpilzherde, wie sie in der Arbeit von Schulze genauer beschrieben und in Figg. 1 bis 8 abgebildet sind, kein rein passiver Vorgang ist und nicht ausschliesslich auf einer Quellung der Pilzmembran beruht. Ich möchte es sogar nicht für so ganz sicher halten, ob die in Versuch 12 benutzten Tuberkelpilze wirklich völlig todt waren; es ist ja bekanntermassen sehr unsicher, ob in einer Desinficientien ausgesetzten üppigen Cultur alle Mikroben getödtet werden, und es ist das bei Tuberculoseculturen um so schwieriger zu beurtheilen, weil das Weiterzüchten von Culturen auch spontan versagen kann, wenn noch lebenskräftige Elemente in ihnen vorhanden sind. Wie man aber auch den Versuchsausfall deuten mag, immer zeigt die Gesammtheit der Versuche, dass die Strahlenpilzherde in ihrer ganzen Ueppigkeit nur dann entstehen, wenn den Pilzen an und für sich relativ günstige Ernährungsbedingungen gegeben sind, ihnen aber während des Wachsthumes Hemmnisse sich entgegenstellen, so dass man, wie ich schon hier hervorheben will, das Auftreten der Strahlenpilzherde und Keulen am besten als eine Hemmungsmissbildung bezeichnen kann. So erklärt es sich, dass gerade die Säugethiertuberkelpilze bei Kaninchen so regelmässig und reichlich Kolbenformen aufweisen, während das schon für die modificirten Tuberkelpilze, die dem Kaninchenkörper weniger gut angepasst sind, seltener oder ganz unvollkommen stattfindet; und auch da sehen wir wieder, dass es bei den Vogeltuberkelpilzen, die noch am besten den Temperaturen des Kaninchenkörpers angepasst sind, am vollendesten stattfindet. — Weiter können wir aber aus unseren Beobachtungen Einiges entnehmen über die Bedeutung der echten Verzweigungen und Fadenbildungen bei den Tuberkelpilzen. Je mehr nämlich sich die Pilze einem mehr saprophytischen Dasein anpassen, um so häufiger, frühzeitiger, regelmässiger und ausgebildeter treten die Fadenpilzformen auf. Bei den Pilzen der Säugethiertuberculose, die am einseitigsten differenzirt sind und nur innerhalb enger Temperaturgrenzen für gewöhnlich vegetiren können, treten verzweigte Formen bekanntlich nur ausnahmsweise, spärlich und in geringerer Ausbildung auf; häufiger ist das schon bei den Pilzen der Hühnertuberculose der Fall, die weniger einseitig ausgebildet sind und sich in viel grösseren Temperaturgrenzen vermehren können; am reichlichsten und regelmässigsten sehen wir aber die Fadenpilzformen auftreten bei denjenigen Formen, die durch künstliche Beeinflussung zu einem mehr saprophytischen Dasein gelangt sind. Ganz das Gleiche gilt für die Körnerbildungen und endständigen Anschwellungen, die ebenfalls um so reichlicher auftreten, je mehr sich die Tuberkelpilze der parasitischen Lebensweise entwöhnt haben. Diese Thatsachen sprechen gegen die Annahme, dass alle diese Bildungen Degene-



rations- oder Involutionsformen sind, wie z. B. selbst Kruse[1] noch anzunehmen geneigt scheint. Im Gegentheil sind sie geeignet, die schon von Fischel-Hüppe[2] ausgesprochene Ansicht zu stützen, dass „die sogenannten Tuberkelbacillen nur die parasitische Anpassungsform eines pilzartigen pleomorphen Mikrobion sind". Sobald die Pilze gezwungen sind, ihr parasitisches Dasein aufzugeben und sich auf eine saprophytische Existenz einzurichten, tritt auch ein Rückschlag auf die ursprüngliche Stammform wieder ein und anstatt der Stäbchenform beginnt in den Culturen die Form verzweigter Fäden zu überwiegen; sie wachsen allmählich immer ausgesprochener, wie Streptotricheen, bei denen der Zerfall der Fäden in Stäbchen und Körner, das Auftreten von Anschwellungen (Keulen u. s. w.) ja geradezu etwas Regelmässiges ist. — So sehen wir, dass in der That die Gruppe der modificirten Tuberkelpilze in noch ausgeprägterer Weise, wie die Pilze der Säugethiertuberculose, alle Bedingungen erfüllt, die für die Zugehörigkeit zur Gruppe der Strahlenpilze erforderlich sind.

II. Die säure- und alkoholbeständigen Pseudotuberkelpilze.

Während bis vor kurzer Zeit die Tuberkelpilze zu den glücklichen Mikroorganismen gehörten, die fast gar keine — oder wenigstens sehr leicht zu differenzierende — Doppelgänger besassen, hat sich die Sachlage insofern geändert, als wir in den letzten Jahren eine ganze Anzahl von Mikroorganismen kennen gelernt haben, die in vielen wichtigen Punkten mit den Tuberkelpilzen übereinstimmen. Es war von grossem Interesse, gerade diese Mikroben, soweit sie auch pathogen sind, auf ihre Zugehörigkeit zur Gruppe der Strahlenpilze zu untersuchen. Es wurden hierzu 4 Mikroorganismen benutzt; nämlich 1. bis 3. die von Möller aus Gräsern und Kuhmist isolirten Pilze, 4. der von Lydia Rabinowitsch aus Marktbutter gezüchtete Pseudotuberkelpilz.

A. Möller's Timotheepilz.

Während ich mit den Experimenten über die Strahlenpilzformen der Tuberkelpilze beschäftigt war, erschien die Mittheilung Möller's[3] über seinen aus Timotheegras gezüchteten Pseudotuberkelpilz. Da ich der Mittheilung zunächst etwas skeptisch gegenüberstand, stellte ich Untersuchugen

[1] Flügge, *Die Mikroorganismen.* 3. Aufl. Bd. II. S. 481.

[2] *Verhandlungen der Gesellschaft Deutscher Naturforscher u. Aerzte.* 65. Versammlung. Leipzig 1893. Th. I. S. 157.

[3] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1898.



an, ob auch in der Umgegend von Rostock im Timotheegras die beschriebenen Pilze vorkommen. Das von mir untersuchte Gras stammte aus zwei verschiedenen Orten (Gehlsdorf und Barnsdorf), und schon die ersten Proben, die in Erlenmeyer'schen Kolben bei 37° C. mit etwas sterilem Wasser angesetzt waren, ergaben ein positives Resultat. Bereits nach 18 Stunden fanden sich in dem Grasinfus neben zahlreichen Heubacillen reichlich säure- und alkoholfeste Stäbchen, die sich von Tuberkelpilzen höchstens durch ihre grössere Dicke und Länge unterschieden. Nach 48 Stunden waren diese Stäbchen aber bereits fast ganz von Heubacillen überwuchert, so dass eine Reinzüchtung unmöglich erschien. Diese gelang erst, als ich von Neuem einige Proben mit nicht sehr viel Wasser ansetzte und durch fortgesetztes stündliches Untersuchen den Moment abpasste, in dem die Timotheestäbchen ganz überwiegend im Infus vorhanden waren; das war in einem Falle nach 13 Stunden, in einem anderen nach 19 Stunden der Fall, und nun konnte durch Agarplatten die Isolirung der Pilze leicht erreicht werden. Was die culturellen, morphologischen und biologischen Eigenschaften dieses Pilzes anbetrifft, so will ich in der Hauptsache auf die Angaben von Möller verweisen, von dem ja vermuthlich auch noch eingehendere Mittheilungen über diesen interessanten Pilz erfolgen werden. Nur soweit es zur Identificirung der von mir gezüchteten Pilze mit den Möller'schen nöthig ist, will ich einige Angaben machen. Ein Vergleich meiner Culturen mit einer durch das Král'sche Laboratorium bezogenen, von Möller stammenden ergab zunächst den Unterschied, dass in meinen Culturen die Farbstoffbildung später eintrat und weniger intensiv war, als in der Möller'schen. Nach etwa 14 Tagen hatte sich dieser Unterschied aber völlig verwischt; dagegen blieb ein anderer Unterschied bestehen, dass nämlich die Möller'schen Pilze die Bouillon nicht diffus trüben, während meine Pilze die Bouillon schon nach einigen Tagen diffus trübten und erst nach mehreren Wochen eine Klärung der Flüssigkeit eintrat, dadurch, dass die Pilzcolonieen sich zu Boden senkten. Auch die Kartoffelcultur war etwas abweichend, indem meine Pilze keine sehr üppige Entwickelung auf der Kartoffel darboten. Gleichmässig reichlich und gleichartig war dagegen wiederum das Wachsthum beider Pilze auf Gasperini'schem Mehlkuchen, auf dem die Pilze sehr üppig unter Bildung eines intensiven rothgelben Farbstoffes wuchsen. — Was die morphologischen Verhältnisse anlangt, so kann ich allen Angaben Möller's beistimmen; auf allen Nährböden treten intensiv färbbare Körnchen, sowie knopf- und keulenförmige Anschwellungen frühzeitig und reichlich auf; echte Verzweigungen fand ich dagegen nur selten und nur in stark verdünnter Bouillon und C. Fränkel's eiweissfreiem Nährboden. Auch bezüglich der Säure- und Alkoholfestig-



keit kann ich Möller's Angaben im Wesentlichen bestätigen, nur scheint sie mir im thierischen Gewebe nicht ganz so stark zu sein, wie bei den Tuberkelpilzen. Sie verhalten sich hier eher wie Leprabacillen, bei denen nach meiner Erfahrung eine Verdrängung der Carbolfuchsinfärbung durch Methylenblau leichter möglich ist, als bei den Tuberkelpilzen. Alle diese Unterschiede sind aber so geringfügig, dass es nicht etwa angeht, die von mir gezüchteten Pilze für eine besondere Art zu erklären; höchstens als eine Varietät dürften sie anerkannt werden.

Was nun die Frage nach den Strahlenpilzformen dieser Mikroben anbetrifft, so erschien es nöthig, hier die gleiche Versuchsanordnung einzuschlagen, wie sie von Hrn. Schulze und mir für die Tuberkelpilze eingeschlagen war.

1. Locale Impfungen.

Kaninchen Nr. 14 erhält am 26. XI. 1898 in eine Nierenwunde Timotheepilze aus nur 8 Tage alter Glycerinagarcultur eingeimpft. Am 9. XII., also nach 13 Tagen, wird ein Theil der Impfstelle exstirpirt. An der Imptstelle befindet sich ein etwa linsengrosser, gelblich-weisser Herd von ziemlich fester Consistenz; die Nierenkapsel mit der Umgebung verwachsen und ebenfalls von käsigem Materiale durchsetzt.

Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigt der Nierenherd den typischen Bau eines echten Tuberkels; wie ein Blick auf Fig. 18 ohne Weiteres zeigt; die einzelnen Herde des Conglomerattuberkels bestehen aus grossen epithelioiden Zellen mit hellem Protoplasma und blassen Kernen, zwischen denen Riesenzellen (*Rz*) eingelagert sind und deren Peripherie von zahlreichen intensiv färbbaren einkernigen Rundzellen gebildet wird, während in den centraleren Partieen auch gelapptkernige Leukocyten eingewandert sind. Die eingeimpften Stäbchen liegen zum grössten Theil nicht vereinzelt, sondern in typischen Strahlenpilzherden, wie sie in Figg. 13 und 14 abgebildet sind. Die Kolben dieser Herde fallen schon bei der gewöhnlichen Tuberkelbacillenfärbung nach Ziehl-Neelsen als ungefärbte oder ganz blass-blau gefärbte Gebilde auf; sie verhalten sich im Uebrigen ganz wie die Kolben der Tuberkelpilze, indem sie sich nach Weigert intensiv färben, aber auch zu sauren Anilinfarbstoffen erhebliche Affinität zeigen. Diese Herde sind in den Tuberkeln überall reichlich vorhanden, theils in grossen Langhans'schen Riesenzellen gelegen oder von einem Kranze mehrkerniger Leukocyten umgeben. Das Bild unterscheidet sich in keiner Weise von dem, was man bei Impfung mit echter Tuberculose zu sehen bekommt, höchstens darin liegt ein Unterschied, dass bei Impfung mit Säugethiertuberkelpilzen die Strahlenpilzformen nach 13 Tagen noch nicht so ausgebildet zu sein pflegen, wie hier.

Demselben Thiere wird am 27. XII., d. h. also am 31. Tage nach der Impfung, ein Theil des zurückgebliebenen Knotens aus der Niere



exstirpirt. Der Rest hat sich entschieden vergrössert und eine mehr käsige, bröcklige, in der Mitte etwas erweichte Beschaffenheit angenommen.

Die mikroskopische Untersuchung ergiebt folgende Verhältnisse. Die Tuberkel haben sich nach zwei Richtungen verändert; die Anzahl echter Langhans'scher Riesenzellen hat entschieden zugenommen, während sich die Epithelioidzellen mehr nach der Peripherie zurückgezogen haben und das Centrum der Tuberkel entweder aus einer homogenen, kernlosen, körnigen Masse (verkäste Substanz) oder aus reichlicher Ansammlung vorwiegend mehrkerniger Leukocyten bestand. Mitunter waren die epithelioiden Zellen zu dem verkästen Centrum pallisadenförmig gestellt. Die Epithelioidzellen selbst unterscheiden sich in mehreren Punkten von denen im 13 tägigen Tuberkel. Ein grosser Theil von ihnen ist grösser, augenscheinlich gequollen und mehrkernig, wobei vielfach die Kerne mehr in der Peripherie der Zelle sich zeigen. Eine Zwischensubstanz ist stellenweise deutlich vorhanden, die zum Theil aus glänzenden Balken besteht, die mit Schmaus' Fibrinoid übereinstimmen; echtes Fibrin wurde nicht gefunden. — Auch in diesem Stadium sind deutliche Strahlenpilzherde vorhanden, wenn auch offenbar nicht mehr so reichlich, wie nach 13 Tagen, so dass von einzelnen Stücken zahlreiche Schnitte durchmustert werden müssen, ehe sie gefunden werden. Im Allgemeinen sind die Herde grösser geworden, die Kolben länger und dicker, ohne sich sonst von den 13 tägigen zu unterscheiden. Auch sie liegen in Riesenzellen oder von einem Leukocytenkranze umgeben.

Am 8. I. 1899, also nach 42 Tagen, wird demselben Kaninchen der Rest des Tuberkels aus der Niere entfernt. Die käsigen Knötchen sind noch etwas weicher und bröckliger geworden.

Mikroskopischer Befund: Der Bau der Knötchen ist nicht mehr so charakteristisch tuberculös, wie Anfangs; einzelne Knötchen enthalten nur noch wenige Epithelioidzellen und bestehen zum grössten Theil aus ein- und mehrkernigen Leukocyten; die Zahl der Riesenzellen hat abgenommen. In einigen Knötchen hat sich der centrale Theil förmlich abgelöst, so dass zwischen ihm und der aus Epithelioidzellen bestehenden Peripherie eine Lücke vorhanden ist. Andere Knötchen zeigen dagegen noch mehr den Bau, wie er nach 31 Tagen gefunden wurde; in ihren verkästen Partieen liegen vereinzelt kleine Kalkkrümel. Von den Timotheepilzen sind meist nur vereinzelte, gut färbbare Exemplare nachweisbar; dagegen finden sich reichlich sehr unregelmässig vertheilte und gestaltete Krümel in und zwischen den Zellen, die sich nach der Tuberkelbacillenmethode roth färben. In einigen Riesenzellen finden sich unregelmässig gezackte, leicht röthlich gefärbte Klumpen und Schollen; endlich werden auch noch ganz vereinzelt Strahlenpilzherde gefunden, die fast ausschliesslich aus sehr dicken und langen Kolben bestehen und nur im Centrum noch schwach röthlich gefärbte Stäbchen enthalten.

Kaninchen Nr. 15 erhält am 1. XII. 1898 in eine Nierenwunde eine Platinnadelspitze einer 6 Tage alten Kartoffelcultur des Timotheepilzes eingeimpft. Impfstelle nach 9 Tagen (10. XII.) exstirpirt. In der



Niere ein gelblich-weisser, etwa linsengrosser Herd von ziemlich fester Beschaffenheit.

Mikroskopischer Befund: Die Herde bestehen zum grösseren Theil aus einkernigen Rundzellen; in der Peripherie auch einige Epithelioidzellen, von denen einzelne mehrere Kerne enthalten. Langhans'sche Riesenzellen fehlen noch. Die eingeimpften Pilze liegen theils vereinzelt, theils in kleinen Häufchen in und zwischen den Zellen. Auch einige grössere Pilzhaufen vorhanden, in denen schon einzelne Individuen in der Peripherie senkrecht zur Längsaxe des ganzen Herdes gestellt sind; noch nirgends aber typische Strahlenpilzherde mit Kolben.

Kaninchen Nr. 16. 6. XII. 1898 wird einem Kaninchen nach Trepanation unter die Dura eine Platinnadel Timotheepilzcultur eingebracht. Das gleiche Thier erhält in gleicher Sitzung eine Nadelspitze Timotheepilzcultur in die Lebersubstanz eingeimpft, nachdem ein Stückchen Leberlappen durch eine kleine Laparotomiewunde dicht unter dem Processus ensiformis hervorgezogen war. Am 16. XII., also am 11. Tage, wird dem Thiere ein Stückchen Gehirngranulation und ein Stückchen aus der Leberimpfstelle herausgeschnitten. Bei letzterer Operation zeigt sich, dass auch im Netze einige gelbweisse Knötchen vorhanden sind, die auch zum Theil entfernt werden.

Der mikroskopische Befund stimmt in den meisten Punkten mit dem von Kaninchen Nr. 15 überein. Die Knötchen enthalten nur etwas mehr Epithelioidzellen, doch sind auch reichlich einkernige Rundzellen vorhanden. Riesenzellen fehlen. Timotheepilze vereinzelt und in Gruppen in und zwischen den Zellen. Kleine Strahlenpilzherde mit feinen Kölbchen vereinzelt vorhanden; die Kölbchen noch nach der Tuberkelbacillenmethode färbbar. Diese Beschreibung passt sowohl für die Knötchen des Gehirns, wie die der Leber und des Netzes; in der Leber sind nur vereinzelt strahlige Herde, am reichlichsten in der Gehirngranulation.

Das Thier, das zusehends abmagert, wird am 31. XII. früh Morgens, nachdem es schon am Abend vorher einen schwer kranken Eindruck gemacht, todt gefunden. Bei der Section finden sich zahlreiche grössere und kleinere, gelblich-käsige Knötchen und Knoten im Peritoneum, zahlreich auch in der Darmserosa und dem Mesenterium; die mesenterialen und retroperitonealen Lymphknoten stark verkäst. In der Leber neben einem grösseren käsigen Knoten einige kleinere. Die Bauchorgane sonst ohne Abnormitäten; ebenso die Brustorgane im Wesentlichen normal. An der Impfstelle unter der Dura ein über linsengrosser, käsiger, in die Gehirnsubstanz eindringender Herd. Aus allen Herden können Timotheepilze leicht gezüchtet werden, die im Ganzen ebenso wachsen, wie die Originalculturen.

Das mikroskopische Bild der verkästen Herde weicht von den Befunden am 11. Tage erheblich ab. Fast alle Herde zeigen ausgedehnte Verkäsung und im Ganzen den Bau, wie er in Fig. 19 aus einem subserösen



Tuberkel des Dünndarmes abgebildet ist. Man sieht hier ein verkästes Centrum, an das sich eine Schicht epithelioider Zellen anschliesst, zwischen welche aus der Peripherie Leukocyten eingewandert sind. In anderen Tuberkeln, besonders der Leber, aber auch des Dünndarmes, besteht das kernlose Centrum nicht aus einer krümeligen (käsigen) Masse, sondern aus glänzenden, homogenen Schollen und Balken von hyaliner Beschaffenheit, an die sich im Uebrigen eine Schicht von Epithelioid- und Rundzellen in typischer Weise anschliesst. Die Timotheepilze liegen vielfach in den hyalinen Partieen vereinzelt und in kleinen Zügen und Strängen, theils körnig, theils mit kleinen Anschwellungen versehen. In den zellreicheren Partieen kann man überall (sowohl im Gehirn, wie in Leber, Darm, Mesenterium und Lymphknoten) kleine Strahlenpilzherde mit langen, aber meist nur schmalen Kolben nachweisen, von denen einige noch bei Färbung nach Ziehl-Neelsen roth gefärbt werden, die meisten aber ungefärbt erscheinen. — In den Gehirngranulationen zahlreiche verkalkte Kugeln.

2. Intraarterielle Impfung.

Die Impfungen werden ganz in derselben Weise vorgenommen, wie es in der Arbeit von Hrn. Schulze für die Tuberkelpilzinjectionen beschrieben wurde. Am 21. I. 1899 erhält Kaninchen Nr. 17 1 ^{ccm} einer Timotheepilzaufschwemmung von der Carotis aus in's Herz injicirt. Bei dem Thier, dem früher schon Vogeltuberkelpilze unter die Dura geimpft waren, bildet sich zunächst einige Tage nach der Injection eine vorübergehende Lähmung der vorderen Extremitäten aus, worauf eine Unfähigkeit, den Kopf gerade zu halten, eintritt; der Kopf wird vielmehr dauernd nach links und unten verdreht, eine Stellung, die auch immer wieder eingenommen wird, wenn künstlich der Kopf gerade gestellt ist.

Am 2. II. wird durch Schnitt unterhalb der 12. Rippe die Niere freigelegt und durch die Wunde an die Oberfläche gedrängt. Schon unter der Kapsel sieht man zahlreiche hirsekorngrosse, weisse und gelbliche Knötchen an der Oberfläche, an denen zum Theil die Kapsel ziemlich fest anhaftet. Zwei solche Tuberkel werden herausgeschnitten.

Der mikroskopische Befund gleicht durchaus den bei Kaninchen Nr. 14 am 13. Tage constatirten Verhältnissen. Typische Tuberkel mit Epithelioid- und Riesenzellen. Sehr schöne Strahlenpilzherde mit langen, mitunter etwas spitzen Kolben. Eine Doppelfärbung dieser Herde gelingt in sehr einfacher Weise durch Färbung der Schnitte mit Hämatoxylin (5 Minuten) und Nachfärbung nach von Gieson (1 Min.). Dabei erscheinen die stark gekörnten Stäbchen granatroth, die Kolben intensiv gelb, wie es in Fig. 14a abgebildet ist. Bei dieser Färbung tritt sehr schön hervor, dass ein röthlicher bacillärer Faden in die Kolben hineingeht, wie es bekanntlich auch bei dem eigentlichen Aktinomyces

der Fall ist. Um die Herde herum, wie es Fig. 14a zeigt, zahlreiche mehrkernige Leukocyten; einzelne liegen auch in Riesenzellen.

Demselben Thier wurden am 11. II., also nach 21 Tagen, wiederum zwei Tuberkel aus der linken Niere herausgeschnitten. Die Tuberkel sind nicht auffallend grösser geworden, die ganze Niere aber entschieden vergrössert. Der mikroskopische Befund ist im Grossen und Ganzen der gleiche, wie nach 12 Tagen; nur ist an einigen Tuberkeln schon Verkäsung und stärkere Leukocyteneinwanderung eingetreten. Strahlenpilzherde sind noch reichlich vorhanden, ihre Kolben länger und dicker, im Uebrigen unverändert. Die Epithelioidzellen der Tuberkel sind häufig gequollen und mehrkernig, Langhans'sche Riesenzellen ziemlich reichlich vorhanden.

Am 21. II. wird wiederum ein Tuberkel aus der linken Niere entfernt. Jetzt fällt deutlich auf, dass einige Knötchen eher kleiner geworden sind und um ihr gelbes Centrum einen grauen Hof besitzen. Mikroskopisch bestehen die Tuberkel, die zum Theil von einer bindegewebigen Kapsel umgeben sind, fast ausschliesslich aus sehr grossen gequollenen Epithelioid- und vielkernigen Riesenzellen, die in ihrem Innern zahlreiche Kugeln und Krümel, sowie unregelmässig gestaltete und gezackte Gebilde enthalten, die sich nach Ziehl-Neelsen roth färben. Timotheepilze sind nur ganz vereinzelt zu finden, im Uebrigen noch gut färbbar; an Strahlenpilzherden wird in dem ganzen, in Serienschnitte zerlegten Tuberkel nur ein länglich gestreckter mit sehr langen Kolben gefunden.

Am 6. März wird dem Thiere die linke Niere exstirpirt. Sie ist im Ganzen erheblich vergrössert, von weicher Consistenz und auf dem Durchschnitt sehr feucht und blutreich. An der Oberfläche sind noch zahlreiche gelbe Knötchen vorhanden, von denen einzelne in grauen, etwas eingezogenen Narben (den Extirpationstellen der früheren Versuche) gelegen sind. Auf dem Durchschnitt sieht man, dass zahlreiche Tuberkel als gelbe Streifen bis in die Marksubstanz hineinreichen. Schneidet man sie ein, so entleert sich aus einzelnen ein gelblich weisser Brei, der einige festere, stecknadelspitzgrosse Körnchen enthält, die unter dem Mikroskop als typische Aktinomycesdrusen erscheinen.

Die mikroskopische Untersuchung ergiebt an den verschiedenen Knötchen verschiedene Resultate. Die in der Rinde gelegenen bestehen fast ausschliesslich aus grossen, gequollenen mehrkernigen Epithelioidzellen, zwischen denen vereinzelt auch Riesenzellen und mehrkernige Leukocyten liegen. Das Centrum der Herde besteht meist aus einer homogenen, körnigen, verkästen Masse oder aus einer mächtigen Ansammlung von Leukocyten. Strahlenpilzherde wurden in ihnen nicht gefunden, Stäbchen

auch nur vereinzelt. Dagegen sind reichlich in den Zellen allerlei Bröckel und unregelmässig gestaltete Klumpen zu finden, die sich nach Ziehl-Neelsen roth, nach Weigert blau färben; auch Pigmentkörnchen finden sich in den Zellen. — Die Structur der in der Marksubstanz gelegenen Herde ist dagegen eine abweichende, insofern die Epithelioidzellen zum grössten Theil durch Rund- und Eiterzellen verdrängt sind, welche den grössten Theil der Herde ausmachen. In diesem Theile liegen dann die Strahlenpilzdrusen oft in grösserer Zahl, z. B. in einem Herde 3 oder 4. Sie zeichnen sich dadurch aus, dass sie im ungefärbten Zustande eine gelblich-braune Farbe besitzen, theils rundlich, theils länglich sind und ganz besonders lange und dicke Kolben aufweisen, die den Durchmesser der in Fig. 14a abgebildeten um gut das Doppelte übertreffen. Diese Herde unterscheiden sich eigentlich von den bei menschlicher Aktinomykose vorkommenden gar nicht mehr, da auch das strahlenförmige, bezw. fädige Centrum nicht mehr die Tuberkelbacillenfärbung annimmt. Nach dieser Methode gefärbt, erscheinen die mächtigen Kolben blau oder einzelne rosa und die Stäbchen ebenfalls blau oder ganz leicht roth. Einzelne Herde bestehen fast ausschliesslich aus Kolben, wie das bei Aktinomykose der Rinderzunge so häufig der Fall ist. — Um jeden Herd findet sich auch hier ein Kranz von Leukocyten.

Am 7. März, also nach 45 Tagen stirbt das Thier. Bei der Section findet sich die rechte Niere ebenso verändert, wie die linke. In der Leber einige etwa stecknadelkopfgrosse graue und gelbe Knötchen und nach dem Rande des linken Lappens zu ein erbsgrosser käsiger Herd, in dessen Bereich das Netz mit der Leberoberfläche verwachsen ist. In der Lunge einige kleine gelbliche Knötchen. Im Gehirn, an der Stelle, wo früher Vogeltuberkulose verimpft war, ein über erbsgrosser, bis dicht an den Ventrikel reichender käsiger Herd; ausserdem noch zahlreiche kleine graue Knötchen in der Gehirnrinde.

Die mikroskopische Untersuchung hatte folgendes Ergebniss. Der Befund in der rechten Niere stimmt mit dem der linken Niere vom 6. III. völlig überein, so dass nähere Schilderung überflüssig. Die Leberherde stimmen ebenfalls sehr mit den in der Niere gelegenen überein; die kleineren, die vielfach in Aesten der Art. hepatica gelegen sind, bestehen fast ausschliesslich aus stark gequollenen Epithelioidzellen, in denen auch zahlreiche Pigmentkörner vorhanden sind, neben den oben beschriebenen Bröckeln und Schollen. Stäbchen sind nur noch ganz vereinzelt vorhanden. Im grösseren Herd finden sich Riesenzellen und vereinzelte Strahlenpilzherde, sowie centrale Erweichung. In der Lunge sind die kleineren Herde zum Theil deutlich verkäst, zum Theil mehr erweicht und in Einschmelzung begriffen; Stäbchen vereinzelt vorhanden; keine Strahlenpilzherde. — Im Gehirn lassen sich in den Granulationen, die an der ersten Impfstelle sich ausgebildet haben, noch Vogeltuberkelpilze in kleinen Häufchen nachweisen. Timotheepilze



sind nicht sehr reichlich vorhanden, einige Strahlenpilzherde vorhanden. Was das Histologische anbetrifft, so überwiegen auch hier grosse Rundzellen und Leukocyten an vielen Stellen, während an anderen mehr die grossen, gequollenen Epithelioidzellen vorherrschen. — Die kleineren Tuberkel der Gehirnrinde sitzen meist dicht an kleinen Capillaren und bieten theils das Bild reiner Epithelioidzellentuberkel, theils das verkäster kleinzelliger Tuberkel dar; in ihnen vereinzelt kleine Strahlenpilzherde.

Ueberblicken wir die Resultate dieser Versuche, welche, wenn sie auch nur an im Ganzen 4 Thieren angestellt wurden, doch 11 verschiedene Stadien umfassen, so sehen wir, dass bezüglich der Bildung von Strahlenpilzherden die Verhältnisse völlig mit dem übereinstimmen, was wir bei der Tuberculose kennen gelernt haben. Ihr Bildungsmodus geht in gleicher Weise vor sich; zuerst treten nur kleine, kurze und mehr spitze Kolben in der Peripherie auf, die sich allmählich auf Kosten der centralen Partieen zusehends vergrössern und schliesslich fast allein die Herde zusammensetzen. Auch darin besteht Uebereinstimmung, dass die Säure- und Alkoholbeständigkeit der kolbigen Fortsätze mit zunehmendem Alter immer mehr schwindet und einer ausgesprochenen Metachromasie Platz macht. Diese Erscheinung ist bei den Timotheepilzen noch ausgeprägter und vollständiger, wie bei den Tuberkelpilzen, indem selbst die centralen Stäbchen und Fädchen schliesslich die Fähigkeit, die Tuberkelbacillenreaction zu geben, verlieren und dadurch vollständig mit den eigentlichen Aktinomycespilzen übereinstimmen. Diese Uebereinstimmung ist endlich so gross, dass es in den erweichten Knötchen sogar zur Bildung kleiner, mit blossem Auge sichtbaren Körnchen kommt, die nur aus den Pilzdrusen und anhaftenden Eiterzellen bestehen. Hierin, sowie in der Zeit des Auftretens der Strahlenpilzherde, liegt der einzige, übrigens wenig erhebliche Unterschied gegenüber den Strahlenpilzherden der Tuberkelpilze. Während sich diese nach unseren Beobachtungen frühestens etwa um den 13. Tag herum, meist aber erst um den 15. bis 17. Tag bilden, geschieht dies bei den Timotheepilzen, wie es scheint, regelmässig etwas früher, nämlich zwischen dem 10. und 12. Tage.

Was die histologischen Verhältnisse anbetrifft, so sind sie insofern von grossem Interesse, als die durch Timotheepilze hervorgebrachten Veränderungen beim Kaninchen fast völlig mit echten Tuberkeln übereinstimmen. Wenn Möller sich dahin ausgesprochen hat, dass von allen Pseudotuberkelpilzen die Timotheepilze „den Koch'schen Bacillen am nächsten stehen", so möchte ich dem völlig beistimmen, soweit es sich um das Verhalten im Thierkörper handelt, während freilich in Bezug auf die Form der einzelnen Stäbchen und die Art des Wachthums auf den



meisten Nährböden nach meiner Messung die Butterbacillen von Lydia Rabinowitsch den Tuberkelpilzen mehr gleichen, als die Timotheepilze.

Was aber die Knötchenbildungen dieser Mikroben im Kaninchenkörper anbetrifft, so möchte ich die Uebereinstimmung mit echten Tuberkeln für geradezu verblüffend erklären, und zwar in allen ihren Stadien. Wenn nach den Angaben von Kretz (citirt bei Möller) beim Meerschweinchen die Timotheepilze Granulationen mit Neigung zur puriformen Einschmelzung und Verfettung bilden, so trifft das für den Kaninchenkörper viel weniger zu; hier ist vielmehr das gewöhnliche Schicksal der Knötchen die Verkäsung, wie bei der Tuberculose; aber auch in der Anordnung, in der Häufigkeit der Riesenzellenbildung ist die Uebereinstimmung eine vollkommene — vielleicht mit dem einzigen Unterschiede, dass die einzelnen Stadien bei den Timotheepilztuberkeln etwas rascher ablaufen, als in echten Tuberkeln. Aber auch diese Unterschiede sind so geringfügig, dass z. B. der in Fig. 19 abgebildete, 25 Tage alte Thimotheepilztuberkel der Darmserosa bis in die kleinsten Einzelheiten mit einem ebenfalls 25 Tage alten Darmserosatuberkel von Kaninchen Nr. 20 (vgl. die Arbeit von Schulze, S. 153) übereinstimmte. Darüber kann jedenfalls kein Zweifel herrschen, dass es völlig unmöglich ist, durch die histologische und mikroparasitäre Untersuchung — selbst wenn man das Alter der betr. Producte kennt — Timotheepilztuberkel von echten Tuberkeln mit Sicherheit zu unterscheiden. Ausschliesslich durch die Cultur kann die Unterscheidung gebracht werden. Eine andere Frage ist es, ob dies auch für andere Thiere, als Kaninchen, gilt. Beim Meerschweinchen scheinen die Verhältnisse schon etwas anders zu liegen und für den Menschen scheint der Timotheepilz nur geringe Virulenz zu besitzen. Völlig gleichgültig ist er freilich auch für diesen nicht. Ich impfte mich selbst mit einer frischen Cultur am Unterarm, indem ich theils nach vorausgegangener Skarification Culturmaterial in die Haut einbrachte, theils in eine kleine, mit der Scheere angelegten Hauttasche Culturbröckel einimpfte. Es bildeten sich an allen Stellen im Verlauf von 8 bis 10 Tagen kleine rundliche Erhebungen von Anfangs fester Consistenz und röthlicher Farbe aus. Als ich sie am 11. Tage exstirpiren liess, wobei der Chirurg zunächst die Diagnose auf Leichentuberkel stellte, erschien die histologische Structur doch anders, als ich erwartet. Es war weniger das Bild eines Tuberkels, als einer diffusen, hauptsächlich an die Schweissdrüsen anschliessenden entzündlichen Wucherung, in der nur noch wenig Stäbchen und keine Strahlenpilzherde gefunden wurden. Es ist aber immerhin möglich, dass bei anderer Versuchsanordnung und Untersuchung verschiedener Stadien auch beim Menschen andere Verhältnisse sich ergeben würden. —



Was nun die von Möller ja bereits kurz berührte Frage anbetrifft. in welcher Beziehung die Timotheepilze zu den Tuberkelpilzen stehen, so kann ich sie hier nur streifen. Dass die Timotheepilze nach längerem Verweilen im Thierkörper den Tuberkelpilzen ähnlicher wachsen, wie Möller angiebt, habe ich nicht ganz bestätigen können. Richtig ist allerdings, dass die nach einiger Zeit aus den Kaninchenorganen gewonnenen Pilze sehr viel langsamer wuchern, wie das besonders in meinen Versuchen nach 6wöchentlichem Aufenthalte im Kaninchenkörper eclatant war, aber sie unterscheiden sich doch vor Allem stets durch die intensive Farbstoffbildung. Immerhin ist es nicht gerade wahrscheinlich, dass keine genetischen Beziehungen zwischen beiden Pilzarten bestehen und sie nicht wenigstens Abkömmlinge einer Stammform sind. Ueber diese Frage können aber nur sehr sorgfältige und lange fortgesetzte Untersuchungen grössere Klarheit verschaffen, die wir hoffentlich von Dr. Möller zu erwarten haben.

B. Möller's Mistpilz.

Ausser dem Timotheepilz hat Möller auch im Mist von Kühen einen zweiten säure- und alkoholfesten Mikroorganismus gefunden, der in zahlreichen Eigenschaften mit dem Timotheepilz übereinstimmt. Auch dieser Mikroorganismus ist sicher weit verbreitet, denn ich habe ihn ebenfalls in den Entleerungen hiesiger Kühe mikroskopisch nachweisen können, wenn ich ihn auch nicht gezüchtet habe. Die Culturen verdanke ich erst der grossen Freundlichkeit des Hrn. Collegen Möller, dem ich meinen besten Dank dafür auch hier aussprechen möchte. — Da Möller bisher über die Unterschiede zwischen dem Mist- und Timotheepilz noch nichts Genaues angegeben hat, so will ich kurz das anführen, was für eine Trennung beider nahverwandter Arten Ausschlag gebend ist. Während auf Agar beide Pilze sehr gleichartig wachsen, unterscheidet sich der Mistpilz sehr deutlich bei der Züchtung in verdünnter Bouillon und auf Gasperini'schem Mehlkuchen. Die Bouillon wird nämlich durch den Mistpilz niemals diffus getrübt, die Colonieen finden sich vielmehr ausschliesslich am Boden des Reagensglases; auf Gasperini's Mehlkuchen wächst der Timotheepilz üppig, der Mistpilz sehr spärlich. Als weiterer Unterschied sei noch notirt, dass der Mistpilz seltener ausgeprägte echte Verzweigungen bildet. Endlich stimmt er auch in Bezug auf sein Verhalten im Kaninchenkörper nicht ganz mit dem Timotheepilz überein. Die von ihm nach localer Einimpfung in die Niere erzeugten Producte gleichen nämlich echten Tuberkeln weniger, indem in den Knötchen grosse einkernige Zellen reichlicher vorhanden sind, als Epithelioidzellen. Auch zur Bildung richtiger

Strahlenpilzherde kommt es früher, indem schon nach 6 Tagen typische strahlige Herde mit Kolben gefunden werden (Fig. 15). Da es sich für mich zunächst nur darum handelte, festzustellen, ob auch beim Mistpilz Strahlenherde vorkommen, so genügten mir zwei Versuche an Kaninchen, denen Mistpilzmaterial direct in eine Nierenwunde eingeimpft wurde. Dem einen Thiere (Kaninchen Nr. 18) wurde nach 6, dem anderen (Kaninchen Nr. 19) nach 8 Tagen die Impfstelle entfernt. In beiden Fällen fanden sich Strahlenpilzherde mit Kolben, in typischer Weise theils in Riesenzellen liegend, theils von Leukocyten umgeben, vor. Sie unterschieden sich von denjenigen der sonst beobachteten Fälle vor Allem dadurch, dass bei der Färbung nach Birch-Hirschfeld die Fäden nur schwach und mehr bräunlich sich färbten und auch nur ein Theil der Kolben ausgesprochen violette Färbung annahm.

C. Möller's Graspilz II.

Es handelt sich hier um einen Mikroorganismus, den Möller ebenfalls aus Gräsern isolirt, über den er aber noch keine weiteren Mittheilungen gemacht hat.[1] Da mir Hr. College Möller freundlichst eine Cultur übersandte, will ich mit Einverständniss des Entdeckers einige Angaben über diesen Mikroben machen, soweit es für die Strahlenpilzfrage von Interesse ist. — Der ebenfalls sehr säure- und alkoholbeständige Pilz bildet auf den meisten Nährböden Stäbchen, die länger und dicker, wie Tuberkelpilze sind. Im Gegensatz zu den meisten Strahlenpilzen bildet er auf Agar keine trockenen, körnigen Beläge, sondern einen saftigen, weichen, zusammenhängenden Belag, der in den ersten Tagen farblos wächst, allmählich aber einen intensiv gelben Farbenton annimmt. Auf der Kartoffel und dem Gasperini'schen Mehlkuchen ist das Wachsthum ein ausgebreitetes und schnelles, hier werden aber weniger feuchte Ueberzüge gebildet; auf dem Mehlkuchen sind sogar richtige trockene Schuppen und Bröckel vorhanden. Die Bouillon wird diffus getrübt und an der Oberfläche eine Haut gebildet; im Uschinsky'schen Nährboden ist das Wachsthum ein eigenthümliches, indem grosse Flocken und Fäden gebildet werden, ohne allgemeinere Trübung des Nährbodens. — Mikroskopisch enthalten die Culturen grösstentheils lange Stäbchen, die entschieden dicker sind wie Tuberkelstäbchen und sowohl eine Neigung zur Körnerbildung, wie zur Entstehung kleiner endständiger Anschwellungen und Keulen besitzen. Auf Glycerinagar und gewöhnlichem Agar, mitunter auch

[1] Anmerk. bei der Correctur. Inzwischen ist eine Mittheilung von Möller erschienen: Ein neuer säure- und alkoholfester Bacillus aus der Tuberkelbacillengruppe u. s. w. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXV. S. 369.



in verdünnter Bouillon, bilden sich reichlich echte Verzweigungen, wie sie auf Fig. 17 abgebildet sind. Neben diesen echten Verzweigungen kommen auch auf anderen Nährböden oft sehr reichlich Bildungen vor, die man als falsche Verzweigungen zu deuten geneigt sein könnte. Namentlich finden sich nicht selten Ypsilonformen vor. Es ist mir aber doch zweifelhaft, ob es sich hier um wirkliche Pseudoverzweigungen, wie sie von den Cladotricheen beschrieben werden, handelt, oder nicht mehr um zufällige Anlagerungen der einzelnen Stäbchen im Präparate. Für letzteres spricht die Thatsache, dass 1. eine Hülle um die Fäden, wie sie gerade charakteristisch für die Cladotricheen ist, niemals nachweisbar war; 2. doch nicht selten ein deutlicher, wenn auch sehr kleiner Zwischenraum zwischen den einzelnen, sich zu Ypsilonformen und ähnlichen Bildungen gruppirenden Stäbchen vorhanden war. Es würde sich hier also mehr um eine Pseudodichotomie im Sinne von Babes handeln, die ja nach den Angaben dieses Autors bei verschieden stäbchen- und kugelförmigen Spaltpilzarten nicht selten vorkommt. — Was nun die Säure- und Alkoholbeständigkeit dieses Pilzes anbetrifft, so war sie schon in den meisten Culturen geringer, als die der Tuberkelpilze und der anderen bisher erwähnten Pseudotuberkelpilze, ein Verhalten, das noch mehr im Thierkörper auffiel.

Die Thierversuche, die mit diesem Graspilz von mir angestellt wurden, waren folgende.

Kaninchen Nr. 20 erhält am 6. II. in eine Nierenwunde eine Oese einer 4tägigen Agarcultur des Graspilzes eingeimpft. Nach 5 Tagen, am 11. II., wird die Impfstelle ausgeschnitten. Schon makroskopisch unterscheidet sich der Herd von dem, was bei den anderen Versuchen beobachtet wurde. Es besteht nämlich nicht ein homogener, weisslich-gelber Knoten, sondern man findet in die Nierensubstanz eingelagert bis in die Marksubstanz reichend weisse und gelbliche Streifen. Der mikroskopische Befund stimmt hiermit durchaus überein, indem es sich im Wesentlichen um eine interstitielle Nephritis handelt, wobei allerdings die Bildung grosser Epithelioidzellen auffällt und der Befund mehrkerniger Leukocyten ein relativ spärlicher ist. In einer Anzahl gerader Harncanälchen finden sich neben abgestossenen Epithelien besonders reichlich gequollene runde Zellen, ganz von dem Aussehen der grossen Zellen bei der käsigen Pneumonie. In den Herden sind reichlich Graspilze vorhanden, zum Theil in Zellen gelegen, zum Theil aber auch frei. Wenn die Präparate ganz in der Weise angefertigt werden, wie Tuberkelbacillenpräparate, erscheint nur der kleinere Theil der Stäbchen intensiv roth gefärbt, ein anderer Theil ist nur von blass rosa Farbe, ein dritter hat die blaue Contrastfärbung angenommen. Nur wenn man das Carbolsäurefuchsin recht lange (1 Stunde) einwirken lässt und wiederholt stark erhitzt, behalten alle Stäbchen die Rothfärbung bei. Strahlenpilzherde sind nirgends zu finden.

Kaninchen Nr. 21 wird am 7. II. in gleicher Weise wie Kaninchen Nr. 20 geimpft; am 13., also am 7. Tage, die Impfstelle entfernt. Das



Resultat der mikroskopischen Untersuchung ist genau dasselbe, wie bei Kaninchen Nr. 20.

Kaninchen Nr. 22 erhält am 19. II. einige Tropfen einer 3tägigen Milchcultur des Graspilzes in die rechte Niere gespritzt. Nach 6 Tagen wird die Injectionsstelle mit Umgebung exstirpirt. An der Injectionsstelle ein gesprenkelter, weisslich-gelber Herd.

Das mikroskopische Bild weicht von dem der vorigen Versuche in einigen Punkten ab, und zwar vor Allem darin, dass die Erkrankung keine völlig diffuse ist, sondern sich auch ganz isolirte Knötchen vorfinden, die aus Epithelioid- und Riesenzellen bestehen, theilweise sogar deutlich centrale Verkäsung aufweisen; dazwischen finden sich denn freilich wieder diffusere Entzündungsherde vor und auch mit abgestossenen Epithelien angefüllte Harncanälchen. Die Vertheilung der Graspilze ist eine verschiedene; an einzelnen Stellen liegen sie ganz diffus in und zwischen Zellen, während sie an anderen Partieen in kleineren und grösseren Herden vorhanden sind. Einige dieser Herde, in denen die Stäbchen die Tuberkelbacillenfärbung nur noch sehr schwach annehmen, zeigen strahligen Bau und beginnende kolbige Anschwellungen.

Also auch in diesen Versuchen wurde die Bildung strahliger Herde nicht ganz vermisst, obgleich zweifellos die Graspilze für Kaninchen weniger gefährlich sind, als die Timothee- und Mistpilze. Nach den mir gemachten Angaben Möller's sollen die Graspilze für Meerschweinchen grössere Virulenz besitzen, besonders wenn Milchculturen intraperitoneal eingespritzt werden. Aber es lag für mich keine Veranlassung vor, hier noch weitere Versuche vorzunehmen, weil es für den Zweck dieser Untersuchungen genügte, überhaupt das Vorkommen von Strahlenpilzformen festzustellen. Weiteren Untersuchungen mag es vorbehalten sein, auf die Besonderheiten, die bei den verschiedenen einander ähnlichen Pilzen in Bezug auf die Bildung der Herde vorkommen, näher einzugehen.

D. Rabinowitsch's Butterpilz.

Vergleichende Untersuchungen über den von Lydia Rabinowitsch aus zahlreichen Butterproben gezüchteten Pseudotuberkelpilz erschienen um so nöthiger, weil von der Entdeckerin dieses Mikroorganismus behauptet worden ist,[1] er wäre identisch mit dem Möller'schen Timothee- und Mistpilz. Dass diese Behauptung irrig ist, geht nun nicht nur aus der Betrachtung der Culturen hervor, sondern mit noch grösserer Sicherheit aus den Thierversuchen. Zwar sind auch die culturellen und selbst morphologischen Unterschiede so bedeutende und durchgreifende, dass es kaum begreiflich ist, wie Rabinowitsch zu ihrem Urtheile gelangen

[1] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXIV.

konnte, wenn man nicht annimmt, dass sie ihr Urtheil ausschliesslich auf den Meerschweinchenversuch gegründet hat. Was die morphologischen Unterschiede anbetrifft, so ist im Allgemeinen der Rabinowitsch'sche Mikroorganismus[1] länger und feiner, als der Thimothee- und Mistpilz; auch bildet er in verdünnter Bouillon, mitunter aber auch auf Glycerinagar reichlicher echte Verzweigungen und Keulenformen, als diese. Die culturellen Unterschiede sind besonders eclatant auf Agar und Bouillon, indem der Butterpilz auf Agar viel länger völlig farblos wächst und gerunzelte, gebirgsstocksartige Massen bildet, die erst etwa vom 8. Tage an einen gelblich rothen Farbenton annehmen, die aber selbst nach vielen Wochen noch nicht eine so intensive Färbung besitzen, wie die Colonieen des Timothee- und Mistpilzes. In Bouillon bildet sich bereits nach 48 Stunden an der Oberfläche eine gerunzelte Haut und ein bröckeliger Bodensatz, die übrige Bouillon bleibt klar, während gerade für den Timotheepilz die frühzeitige diffuse Trübung der Bouillon charakteristisch ist.

Die Thierversuche wurden an Kaninchen angestellt und hatten das Ergebniss, dass der Rabinowitsch'sche Butterpilz viel geringfügigere Veränderungen bei diesen Thieren hervorbringt, wie die Möller'schen Pilze. In dieser Beziehung steht er sogar noch hinter dem Graspilz zurück. Die Versuche hatten folgendes Ergebniss.

Kaninchen Nr. 23 wird am 13. II. mit einigen Bröckeln einer 6 Tage alten Cultur des Butterpilzes in eine Nierenwunde geimpft. Die Impfstelle am 19. II. exstirpirt. Es finden sich nur geringfügige Veränderungen hauptsächlich an der Oberfläche vor. Die mikroskopische Untersuchung zeigte, dass die Pilze sich nur oberflächlich angesiedelt und eine diffuse Infiltration von einkernigen Rundzellen hervorgebracht haben, zwischen denen stellenweise auch Epithelioidzellen sich finden. Die Stäbchen verhalten sich tinctoriell im Wesentlichen wie der Möller'sche Graspilz. Sie liegen meist zerstreut im Gewebe und bilden selten kleinere Herde. Von diesen Herden besitzen einige deutlich strahlige Anordnung und Keulenbildungen, während andere zum grössten Theil aus schlecht färbbaren Stäbchen bestehen.

Kaninchen Nr. 24. Impfung am 7. III., wie bei Kaninchen Nr. 23. Impfstelle am 14. III. exstirpirt. Resultat im Wesentlichen wie im vorigen Versuche; nur hat der Herd schon etwas grössere Aehnlichkeit mit richtigen Tuberkeln, indem zahlreicher epithelioide Zellen und sogar vereinzelt Riesenzellen in ihm sich finden. Strahlenpilzherde mit im Ganzen schwach färbbaren Kolben vereinzelt vorhanden.

In jeder Beziehung sind also die Resultate gegenüber denen bei Impfung mit Timotheepilzen verschieden, so dass eine Identität beider

[1] Die zu meinen Untersuchungen benutzte Cultur, die ich der Freundlichkeit des Hrn. Dr. Möller verdanke, stammt von der Originalcultur von Lydia Rabinowitsch ab.

Pilzarten durchaus abgewiesen werden muss. — Wichtig ist es aber, dass auch dieser, im Uebrigen grosse Verwandtschaft zum Tuberkelpilz zeigende Mikroorganismus alle Charaktere der Strahlenpilze besitzt.

Werfen wir einen kurzen Rückblick auf die Gruppe der säure- und alkoholfesten Pseudotuberkelpilze, so dürfen wir wohl zu dem Resultate kommen, dass sie sowohl unter einander, als mit dem Tuberkelpilz innige verwandtschaftliche Beziehungen haben, und dass sie unter bestimmten Bedingungen alle diejenigen Eigenthümlichkeiten in morphologischer und biologischer Hinsicht besitzen, die wir der Gruppe der Strahlenpilze zuerkennen mussten.

III. Versuche mit einigen anderen Erregern von Knötchenkrankheiten.

(Streptothrix Eppinger, Rotzbacillen.)

A. Streptothrix Eppinger.

Von allen neuerdings näher studirten Streptotricheen ist der von Eppinger 1887 entdeckte von besonderem Interesse, weil er auf manchen Nährböden in seinem Wachsthum mehr den Spalt-, auf anderen mehr den Fadenpilzen entspricht. Meine Untersuchungen, die mit verschiedenen Stämmen dieses Pilzes vorgenommen wurden, bestätigen im Wesentlichen die kurzen Angaben, die E. Levy und Sidney Wolf in ihrem bakteriologischen Taschenbuche über diesen Mikroorganismus gemacht haben. Während er auf Agar oft kurze Stäbchen bildet, die mit Diphtheriebacillen Aehnlichkeit haben, trifft man besonders auf der Kartoffel und Mehlkuchen, sowie Bouillon die zahlreichsten und ausgesprochensten Fäden mit echten Verzweigungen. Die Kartoffelcultur ist besonders interessant durch ihre grosse Aehnlichkeit mit Schimmelpilzculturen; Anfangs bildet hier der Pilz gelbe, sich immer mehr ziegelroth färbende, trockene und sehr fest haftende Colonieen, die sich nach einiger Zeit mit einem weissen Flaum bedecken, so dass sie wie gepudert aussehen. Man könnte geneigt sein, diese weissen Stäubchen für Lufthyphen zu halten, wie es E. Levy und S. Wolf auch thun. In der That stimmt sehr Vieles in dem Entwickelungsgang der Streptothrix Eppinger mit dem überein, was Lachner-Sandoval von der Streptothrix albido-flava beschreibt; besonders finden sich in dem weissen Flaum der Colonieenoberfläche reichlich Segmentationen, wie sie Lachner-Sandoval in Fig. 3 seiner Arbeit abbildet. Dass aber wirklich Sporenbildung eintritt, möchte ich, so wahrscheinlich es mir auch ist, nicht mit aller Sicherheit behaupten, da es mir nicht gelungen ist, bei Beobachtung von Colonieen im hängenden Tropfen eine Auskeimung der als Sporen imponirenden Gebilde festzustellen. Immerhin



möchte ich wegen der grossen Uebereinstimmung im Wachsthum mit Streptothrix albido-flava, bei der Sporenbildung durchaus sicher gestellt ist, annehmen, dass das negative Resultat meiner Beobachtungen vor Allem dadurch bedingt ist, dass ich nicht auf erwärmtem Objecttische untersuchen konnte.

Was nun die Thierversuche anbetrifft, so wurden sie ebenfalls nur an Kaninchen vorgenommen, die bekanntlich recht empfänglich für diesen Pilz sind. Die Impfung fand entweder in Nierenwunden oder unter die Dura mater statt.

Kaninchen Nr. 25. Am 26. XI. 1898 wird ein weisses Kaninchen mit Streptothrix Eppinger unter die Dura mater geimpft. Am 10. XII. Exstirpation der Granulation. Mikroskopisch besteht die Granulation zum grossen Theil aus einkernigen Rundzellen und Leukocyten, zwischen denen nur wenig epithelioide Zellen nachweisbar sind. Zwischen diesen Zellen kommen die eingeimpften Pilze in verschiedenen Formen vor: 1. finden sich vereinzelt und in Gruppen liegende Stäbchen; 2. grosse Herde, in denen die Pilze nach Art von Schimmelpilzen zu langen, sich vielfach kreuzenden, verzweigten Fäden ausgewachsen sind; 3. typische Strahlenpilzherde mit stäbchenförmigem oder fädigem Centrum und einem Strahlenkranz dicker und langer Keulen, die tinctoriell im Wesentlichen die gleiche Metachromasie darbieten, wie es von den Keulenbildungen der Tuberkel- und Pseudotuberkelpilze geschildert ist. Ein Unterschied besteht vielleicht nur darin, dass bei Färbung nach Birch-Hirschfeld die Kolben einen mehr röthlichen Farbenton annehmen.

Am 30. XII., also nach 34 Tagen, wird demselben Thiere ein weiteres Stück Gehirnsubstanz mit anhaftender Granulation herausgeschnitten. Der Befund ist im Wesentlichen der gleiche, wie nach 14 Tagen, nur überwiegen jetzt in der Granulation Epithelioid- und typische Riesenzellen, während einkernige Rundzellen und Leukocyten mehr auf die Peripherie beschränkt sind. Die Pilze finden sich jetzt fast nur noch in Form grösserer und kleiner Strahlenpilzherde, die entweder in Riesenzellen gelegen sind oder einen Wall von Leukocyten um sich haben. Ausserdem liegen in zahlreichen Epithelioidzellen sich nach Weigert intensiv färbende Kugeln und Bröckel. Culturen aus der Granulation entwickeln sich in typischer Weise.

Am 9. I. 1899, also nach 44 Tagen, wird der Rest der Gehirngranulation entfernt; mikroskopischer Befund wie vor 10 Tagen. Es werden nur noch grosse Strahlenpilzherde gefunden, wie sie in Fig. 11 abgebildet sind. — Auch jetzt entwickeln sich Culturen in typischer Weise.

Kaninchen Nr. 26 wird am 1. XII. 1898 in die linke Niere geimpft. Das Thier wird aus Versehen am 5. XII., also nach 4 Tagen, getödtet. In der Niere an der Impfstelle ein weisser Knoten, der mikroskopisch aus zahlreichen Rundzellen besteht, durch den die Harncanälchen zum grossen Theil verdrängt sind; der Knoten ragt an der Oberfläche der Niere hervor und befindet sich zum Theil noch in der Kapsel. Die eingebrachten Pilze sind meist in grossen Herden vorhanden, die theils aus körnig zerfallenden, theils aus gewundenen und verzweigten Fäden bestehen; ein Theil dieser Herde besitzt



bereits ziemlich lange und dicke Kolben, wie es in Fig. 12 abgebildet ist. Um diese Herde ist stets ein Wall mehrkerniger Leukocyten vorhanden.

Kaninchen Nr. 27 wird am 7. XII. 1898 in die linke Niere geimpft. Am 15. XII., also nach 8 Tagen, ein Stück exstirpirt. Befund im Wesentlichen wie bei Kaninchen Nr. 26. Die Herde sind bereits etwas reicher an Epithelioidzellen.

Demselben Thiere wird am 22. I. 1899, also nach 46 Tagen, ein weiteres Stück Nierengranulation herausgeschnitten. Der mikroskopische Befund deckt sich im Wesentlichen mit dem Befunde vom 9. I. bei Kaninchen Nr. 25.

Kaninchen Nr. 28 wird am 20. XII. 1898 in die rechte Niere geimpft; ein Stück Granulation am 23. XII., Nachmittags, also am 4. Tage, herausgeschnitten; Befund wie bei Kaninchen Nr. 26.

Am 12. I. 1899 ein weiteres Stück herausgeschnitten. Vorwiegend Strahlenpilzherde in Riesenzellen, aber auch noch andere Herde ohne Kolben vorhanden. Am 22. II., also nach 64 Tagen, wird der Rest der Granulation entfernt; hier sind, trotzdem der Herd in Serien zerlegt wird, nur noch ausschliesslich Strahlenpilzherde zu finden; die Granulation enthält nur noch Epithelioid- und Riesenzellen; in letzteren sowohl die bekannten Krümel und Bröckel, als auch verkalkte Schollen. Culturen gehen noch an, aber nur spärlich; von 4 Agargläsern bleiben 3 steril.

Wir sehen also, dass auch bei der Eppinger'schen Streptothrix die Verhältnisse im Wesentlichen ebenso liegen, wie bei den Tuberkel- und Pseudotuberkelpilzen, und zwar nach allen Richtungen. Auch bei Streptothrix Eppinger überwiegt mit zunehmendem Alter der Producte die eigentliche Tuberkelstructur, wenn es auch nie zur richtigen Verkäsung kommt. Auch hier nimmt die Zahl der Strahlenpilzherde mit zunehmendem Alter ab, zugleich aber sind sie schliesslich die einzigen Formen, in denen sich die eingebrachten Pilze noch im Gewebe vorfinden. Bemerkenswerth ist die lange Zeit, während welcher sie auftreten, indem sie vom 4. bis 64. Tage in Versuch 28 nachgewiesen werden konnten. Ebenso ist es interessant, dass durch die Cultur in den letzten Versuchen der Nachweis geführt werden konnte, dass auch die Strahlenpilzherde noch lebensfähige Individuen enthalten.

B. Versuche mit Rotzbacillen.

Obgleich die durch Rotzbacillen hervorgebrachte Knötchenkrankheit sich histologisch und in ihrem Verlaufe sehr wesentlich von der Tuberculose und den erwähnten Pseudotuberculosekrankheiten unterscheidet, erschien es doch wünschenswerth, auch mit ihnen einige Versuche anzustellen, weil nach den Untersuchungen verschiedener Autoren (Semmer, E. Levy) auch beim Rotzbacillus echte verzweigte Fäden vorkommen, und der neuste Autor über diesen Gegenstand, H. Marx,[1] ihn geradezu

[1] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXV. S. 274.



zu den Aktinomyceten rechnet. — Die Versuche wurden in gleicher Weise wie die früheren angestellt, indem Kaninchen subdural oder in die Niere geimpft wurden.

Kaninchen Nr. 29 wird am 12. III. 1899 subdural geimpft. Am 18. III. wird ein Theil des Herdes entfernt. Die Erkrankung ist nicht streng localisirt geblieben, vielmehr findet sich unter der Kopfhaut eine ausgedehnte eitrig-sulzige Infiltration. Das Allgemeinbefinden des Thieres ist aber noch gut. Die mikroskopische Untersuchung ergiebt Folgendes. In den zum grossen Theil aus Eiterzellen bestehenden Knötchen, die aber auch grössere, mehr epithelioide Zellen enthalten, finden sich Rotzbacillen in diffuser Anordnung bald frei, bald intracellulär gelegen vor. Herdförmige Ansammlungen sind gar nicht vorhanden; einzelne längere Stäbchen und Fäden zeigen knopfförmige Anschwellungen, aber keine Kolbenbildungen.

Kaninchen Nr. 30 wird am 12. III. 1899 in die linke Niere geimpft; das Thier macht schon am 17. III. einen recht kranken Eindruck. An der Operationsstelle ist das Unterhautzellgewebe und die Musculatur von einer sulzigen und eitrigen Infiltration durchsetzt. Die Nierenkapsel mit der Umgebung stark verwachsen und ebenfalls stark ödematös. An der Impfstelle ein gelbliches, weisses Knötchen. Die mikroskopische Untersuchung ergiebt im Wesentlichen die gleichen Verhältnisse, wie bei Kaninchen Nr. 29. Auch hier nirgends Strahlenpilzherde oder Kolbenbildung. 2 Tage später, am 19. III., stirbt das Thier. Befund der gleiche.

Kaninchen Nr. 29 werden am 27. III., also nach 14 Tagen, und am 14. IV., also nach 33 Tagen, weitere Theile der Impfstelle entfernt. Die Granulationen sind jetzt reicher an länglichen und platten Zellen mit starkem Kerngehalt. Rotzbacillen nur noch spärlich vorhanden. Keine Strahlenpilzherde.

Die Versuche mit Rotzbacillen zeigen somit, dass es Streptotricheen giebt, die bei gleicher Versuchsanordnung, wie sie für andere dieser Gruppe angehörige Mikroben angewendet war, keine Strahlenpilzformen produciren. Es ist diese Thatsache für die Stellung der Strahlenpilzherde im System von Wichtigkeit.

IV. Versuche mit anderen Streptotricheen.

A. Versuche mit Diphtheriebakterien.

Es wurden zwei Versuche mit höchst giftigen Diphtheriebakterien angestellt, die wegen ihrer Keulenbildungen und des Vorkommens echter Verzweigungen den geschilderten Pilzgruppen nahe stehen. Die Kaninchen wurden in die Niere geimpft; das Resultat war aber durchaus negativ, indem die eingebrachten Mikroben rasch zu Grunde gingen, ohne erhebliche Reaction hervorzurufen; Krankheitserscheinungen allgemeiner Natur traten auch nicht auf. — Ob bei Meerschweinchen ein anderer

Erfolg zu erzielen wäre, was mir übrigens unwahrscheinlich ist, da auch beim Meerschweinchen eine Vermehrung der eingeimpften Diphtheriepilze nicht stattzufinden pflegt, musste unentschieden bleiben, da ich nicht genügend Meerschweinchen auftreiben konnte und die wenigen, die ich hatte, zu anderen Versuchen dienen mussten.

B. Versuche mit zwei von Petruschky isolirten Streptotricheen.

Hr. College Petruschky war so freundlich, mir zwei von den aus menschlichem Sputum gezüchteten Streptothrixarten zur Verfügung zu stellen, von denen die eine Art bereits in den Verhandlungen des Congresses für innere Medicin (1898. S. 560) kurz beschrieben ist. Beide Pilze, von denen der eine aus dem Sputum, der andere aus der Lunge isolirt ist, stehen den Schimmelpilzen jedenfalls sehr nahe. Sie bilden in Culturen auf Agar weisse, ausserordentlich fest im Nährboden sitzende Colonieen, die schon nach wenigen Tagen einen ausgeprägten schimmeligen Geruch verbreiten. Im Anfang zeigen sie vornehmlich verzweigte Fäden, von grösserer Zartheit als Schimmelpilzfäden; nach wenigen Tagen zerfallen sie theilweise in Stäbchen und Kugeln, wodurch sie ihre Zugehörigkeit zu den Streptotricheen an den Tag legen. Sporenbildung scheint vorzukommen. — Obgleich nach Petruschky ihr pathogenes Vermögen gegenüber Thieren kein grosses zu sein scheint, stellte ich doch einige Versuche an Kaninchen an.

Kaninchen Nr. 31 wird am 16. III. in die Niere an zwei verschiedenen Stellen mit den beiden Streptothrixarten geimpft. Am 20. III. ein Theil der Impfstelle herausgeschnitten. Um die Pilzcolonie herum Ansammlung von Rund- und Eiterzellen. Keine Strahlenpilzherde.

Kaninchen Nr. 32 wird in gleicher Weise geimpft am 21. III. Theil der Impfstelle am 29. III. entfernt. Resultat im Wesentlichen das gleiche; die einzelnen Pilzcolonieen enthalten in ihren centralen Theilen fast nur noch schlecht färbbare und zerbröckelte Fäden, während in der Peripherie gut färbbare Fäden mit leichten Verdickungen vorhanden sind. Am 16. VI. der Rest exstirpirt. Die Pilze zum grössten Theil zu Grunde gegangen; hier und da noch einzelne vorhanden, von Zellen umgeben, auch in Riesenzellen liegend. Nirgends Strahlenpilzherde.

Kaninchen Nr. 33 erhält am 21. III. 1 ccm Aufschwemmung der einen Streptothrixart in die Carotis injicirt. Nach 10 Tagen in der Niere einige kleine Herde von Rundzellenanhäufungen mit Resten von Pilzen. Keine Strahlenpilzherde. Nach 4 Wochen nur noch vereinzelt entzündliche Herde, aber keine Pilze mehr nachweisbar.

Nach diesen Versuchsresultaten scheinen die Streptothrixarten von Petruschky für Kaninchen nicht eigentlich pathogen zu sein; gleiches Ergebniss hatten Versuche an Meerschweinchen und einer Taube. Jeden-

falls sprechen auch diese Beobachtungen dafür, dass die Strahlenpilzformen nicht reine Degenerationserscheinungen sind.

Ueberblicken wir nach diesen Auseinandersetzungen und Schilderungen die Ergebnisse der ganzen Arbeit, so lässt sich wohl Folgendes feststellen:

1. Die Aktinomycesformen, die noch bis vor Kurzem für die Characteristica eines bestimmten Krankheitserregers gehalten wurden, kommen unter bestimmten Bedingungen einer grossen Reihe von Pilzen zu, die in die Gruppe der Streptotricheen hineingehören.

2. Die im Thierkörper auftretenden Strahlenpilz- und Keulenformen sind nicht der Ausdruck einer reinen Degeneration, sondern besitzen die Bedeutung einer Hemmungsmissbildung.

3. Eine grosse Anzahl der in diese Gruppe gehörigen Pilze bringt selbst bei empfänglichen Thieren für gewöhnlich nur eine locale Krankheit hervor; nur wenn der ganze Körper von der Blutbahn oder von grossen Lymphräumen aus mit Mikroorganismen geradezu überschwemmt wird, tritt eine Allgemeininfection ein.

4. Es ist empfehlenswerth, die genannte Gruppe von Mikroorganismen, mag man sie nun mit Kruse als Streptotricheen. oder mit Lachner-Sandoval als Strahlenpilze bezeichnen, weder den Spaltpilzen, noch den Hyphomyceten zuzurechnen, sondern als selbstständige Uebergangsform zwischen beide Pilzarten einzureihen.

5. Es ist nach unseren Erfahrungen mit Rotzbacillen, Diphtheriebakterien und Petruschky's Streptotricheen nicht angängig, die Begriffe Streptotricheen und Strahlenpilze gleichzusetzen. Vielmehr scheint es mir richtig, die Strahlenpilze als eine Unterart der Streptotricheen aufzufassen und die Bezeichnung nur denjenigen Organismen beizulegen, die unter irgend welchen Bedingungen echte Strahlenpilzherde mit typischen Keulen- und Kolbenbildungen hervorzubringen vermögen.

Zu diesen Sätzen seien noch einige Bemerkungen und Ausführungen gestattet.

Ad 1 sei nochmals betont, dass principielle Unterschiede zwischen den Aktinomycesformen und Kolbenbildungen der verschiedenen, näher beschriebenen Pilze nicht vorhanden sind. Selbst bei säure- und alkoholbeständigen Pilzen geht diese Eigenschaft den centralen Stäbchenhaufen allmählich abhanden, so dass die von ihnen gebildeten strahligen Herde



echten Aktinomycesherden völlig entsprechen können, wie das besonders eclatant bei dem Timotheepilz nach 44 Tagen der Fall war. — Was das verschiedene Verhalten der Keulen zu Farbstoffen anbetrifft, so besteht auch darin eine gewisse Uebereinstimmung, dass die ältesten Kolben besonders stark acidophil sind, eine Thatsache, die vielleicht auch für das launische Verhalten der Keulen des Aktinomyces hominis und bovis eine Erklärung giebt. — Für die von Boström entwickelte Anschauung, dass die Kolbenbildungen im Wesentlichen auf eine Quellung der Pilzfädenmembran zurückzuführen sind, sprechen auch unsere Beobachtungen, indem bald deutlicher, bald undeutlicher die Stäbchen oder Fäden als axiale Fäden bis in die Kolben verfolgt werden konnten (s. Fig. 14a).

Ad 2. Diese These ist sowohl in Hrn. Schulze's, wie in meiner Arbeit so mannigfach begründet worden, dass ich nur noch wenig dazu zu bemerken habe. Meine Meinung steht somit in der Mitte zwischen Boström's und Friedrich's Ansicht, indem ich die Keulen zwar für Degenerationsformen halte, die aber erst nach vorausgegangenem Wachsthum eintreten dadurch, dass die wachsenden Fäden in ihrer Entwickelung durch die sie umgebenden Zellen beschränkt werden. — Diese Anschauung ist nach meiner Meinung auch für die eigentlichen Aktinomycesherde gültig. So fand ich z. B. in einem Falle von Pleuraaktinomykose des Menschen eine Druse, die nur an der Seite Keulen und Kolben aufwies, wo sie von einem dichten Leukocytenmantel umgeben war. — Auch experimentelle Beobachtungen sprechen dafür. Mit einer aus Rinderaktinomykose gezüchteten Cultur habe ich mehrere Versuche an Kaninchen gemacht, sowohl mit subduraler, wie intraocularer Impfung, als auch Injection grösserer Mengen in die Bauchhöhle. In allen diesen Fällen, in denen es nur zum Zerfall, niemals aber zum Wachsthum der eingebrachten Pilze kam, fehlten Keulenbildungen.

Wenn nun M. Wolff und Israël[1] mit ihren, zweifellos von meinen abweichenden Culturen bei Kaninchen durch intraperitoneale Injection typische Strahlenpilzherde mit schönen Keulen erzeugt haben, so möchte ich nach meinen sonstigen Erfahrungen allein in dem Auftreten solcher Kolben einen Beweis dafür sehen, dass die eingebrachten Pilze wenigstens mit dem Wachsthum begonnen hatten und nicht, wie Boström meint, einfach als Fremdkörper wirkten.

Ad 3. Die Erfahrungen bezüglich des Erfolges der localen Impfungen sind von erheblichem allgemein-pathologischen Interesse, weil sie auch mit den Erfahrungen der menschlichen Pathologie übereinstimmen. Ebenso wie in unseren Versuchen an die streng localisirte Wucherung der Tuberkel-

[1] Virchow's *Archiv*. Bd. CXXVI.



pilze keine Weiterverbreitung des Virus stattfindet, ist es auch beim Menschen das Gewöhnliche, dass die Tuberculose localisirt bleibt, falls nicht besondere Momente die Propogation befördern. Von den ca. 80 Proc. aller Secirten, die tuberculöse Veränderungen irgend welcher Art im Körper aufweisen, hat die überwiegende Mehrzahl ausgeheilte localisirte Tuberculose (der bronchialen oder mesenterialen Lymphknoten, der Lungenspitze u. s. w.) und nur etwa ein Viertel zeigt, dass der tuberculöse Process Fortschritte machte. Da weisen gerade unsere Versuche wieder darauf hin, dass die Ergebnisse der Thierversuche, wenn sie nicht in einer Weise vorgenommen werden, die dem natürlichen Infectionsmodus völlig entspricht, nicht ohne Weiteres für die allgemeine Pathologie Verwerthung finden dürfen.

Ad 4. Seitdem die Untersuchungen der letzten Jahre uns gezeigt haben, dass bei einer Reihe von Mikroorganismen, die man bis dahin ohne Bedenken zu den Spaltpilzen gerechnet hatte, echte Verzweigungen vorkommen, hat sich die Frage erhoben, zu welcher Gruppe von Mikroorganismen sie nun gerechnet werden müssen. Während Kruse sie der Gattung Streptothrix anreihen will und dieser nur eine „äusserliche Aehnlichkeit mit den Schimmelpilzen", dagegen eine nahe Verwandtschaft mit den Bakterien zuerkennt, haben Lehmann-Neumann[1] sie als Mykobakterien zu den Hyphomyceten gerechnet, und auch Lachner-Sandoval will seine „Strahlenpilze" als eine neue Familie in das Hyphomycetensystem eingereiht wissen.

Die Entscheidung über die Stellung dieser interessanten Pilzfamilie kann nach meiner Meinung zunächst nur eine vorläufige sein. Aber das scheint mir klar, dass wir alle diejenigen Mikroben, die echte Verzweigungen in Culturen und Strahlenpilzformen im Thierkörper aufweisen, nicht mehr zu den Spaltpilzen rechnen dürfen, mögen sie sonst auch noch so viel Aehnlichkeit mit ihnen haben. Andererseits, glaube ich, können wir zu den Hyphomyceten wiederum nur diejenigen Pilze rechnen, bei denen ausser den echten Verzweigungen Sporenbildung sicher nachgewiesen ist. Das ist bis jetzt aber nur für einen kleinen Theil der Streptotricheen familie (Streptothrix albido-flava, aurantiaca, carnea, rubra, chromogena, invulnerabilis und alba, Streptothrix Eppinger [?]) geglückt. Besonders hat der Nachweis bei allen denen, die mit Vorliebe als Krankheitserreger auftreten, noch in Stich gelassen. Unter diesen Umständen ist es nicht unwahrscheinlich, dass die hierher gehörigen Pilze durch ihre fortgesetzte Anpassung an die Verhältnisse des Thierkörpers die Fähigkeit zur Sporenbildung verloren und eine den Spaltpilzen nahestehende Wuchs-

[1] *Bakteriolog. Diagnostik.* München 1896.



form angenommen haben, so dass wir uns nicht vorstellen dürfen, dass die Hyphomycetenformen eine höhere Entwickelungsstufe der Spaltpilzformen, sondern umgekehrt, letztere eine Rückschlagsform aus der höheren Entwickelungsstufe darstellen. Gerade durch diese Eigenthümlichkeiten gewinnt diese Pilzgruppe ein besonderes Interesse, indem wir vom descendenztheoretischen Standpunkte aus in ihr ein Zwischenglied zwischen den niederen (Schizomyceten) und höheren Pilzen (Hyphomyceten) sehen können, bei denen die neu erworbenen Eigenschaften noch nicht derartig gefestigt sind, dass sie nicht relativ leicht wieder verloren gehen können. Gerade deswegen erscheint es aber auch zur Zeit verfrüht, sie als eine besondere Familie dem Spalt- oder Fadenpilzensystem einreihen zu wollen, sondern es dürfte den augenblicklichen Kenntnissen mehr entsprechen, sie als besondere Gruppe zwischen Spalt- und Fadenpilze zu placiren. — Wegen der in zahlreichen Punkten bestehenden Uebereinstimmung zwischen den Tuberkel-, Pseudotuberkelpilzen und den bisher als Streptotricheen bezeichneten Mikroorganismen erscheint es mir aber auch nothwendig, sie zu einer grossen Gruppe zusammenzufassen, für die wir am besten wohl den Namen Streptotricheen beibehalten. — Innerhalb der ganzen Gruppe dürften wir dann wieder solche Mikroben unterscheiden, die den Spaltpilzen und solche, die den Schimmelpilzen am nächsten stehen und so gerade eine Stufenfolge von Uebergangsformen erhalten. Zu den ersteren wären vor Allem die Rotzbacillen und Tuberkelpilze, zu letzteren die von Petruschky gezüchteten Streptotricheen zu rechnen, die schon durch ihren typischen Schimmelgeruch ihre nahe Verwandtschaft zu den Schimmelpilzen documentiren.

Ad 5. Wenn Lachner-Sandoval anstatt der Bezeichnung Streptotricheen lieber die Benennung „Strahlenpilze“ einführen will, so erscheint mir das nicht ganz zweckmässig. Einerseits wird man nun einmal allgemein, wenn von Strahlenpilzen die Rede ist, in erster Linie an solche Mikroorganismen denken, die Herde von dem Aussehen des classischen Aktinomyces bilden können. Andererseits wüsste ich aber auch nicht, was Veranlassung geben könnte, Mikroorganismen, wie den Rotz- und Diphtheriebacillus, als Strahlenpilze zu bezeichnen, da bisher irgend etwas, was auf einen strahligen Bau hinwiese, bei ihnen nichts bekannt ist. Zu den Streptotricheen stehen aber auch diese Mikroorganismen in enger Beziehung, da sie verzweigte Fäden und Keulenformen bilden und eine Neigung zum Zerfall in Körner besitzen. Als Hauptcharacteristicum der Streptotricheengruppe wäre dann anzusehen die Fähigkeit, unter bestimmten Umständen bald mehr spaltpilzartig, bald mehr schimmelpilzartig zu wachsen. Als Untergruppe könnten wir dann als Familie der Strahlenpilze diejenigen abtrennen, denen ein weiteres Characteristicum, nämlich



die Fähigkeit, unter bestimmten Bedingungen Colonieen von strahligem Bau zu bilden, zukommt.

Es ist mir bisher nicht möglich gewesen, allen den Fragen, die sich an die in vorliegender Arbeit mitgetheilten neuen Beobachtungen anschliessen, näher zu treten. So liegt es ja auf der Hand, dass es von Interesse wäre, noch genauer zu erforschen, unter welchen Bedingungen und bei welchen Thierarten die beschriebenen Strahlenpilzformen auftreten. Ich möchte deswegen hervorheben, dass ich noch mit weiteren Untersuchungen über diese Fragen beschäftigt bin und später nähere Mittheilungen darüber entweder selbst oder durch einen meiner Schüler machen werde.

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. I.)

Fig. 11. Aus einer Gehirngranulation 44 Tage nach subduraler Impfung mit Streptothrix Eppinger (Kaninchen 25). Färbung Alauncarmin Weigert. Zeiss' homog. Immers. $^1/_{12}$, Oc. 3.

Fig. 12. Aus einer Granulation der Niere am 5. Tage nach Impfung mit Streptothrix Eppinger (Kaninchen 26). Färbung und Vergrösserung wie in Fig. 11.

Fig. 13. Riesenzellen mit Strahlenpilzherd aus einem Nierentuberkel. 12 Tage nach intraarterieller Injection von Timotheepilzen (Kan. 14). Färbung Carmin Weigert. Vergrösserung Zeiss $^1/_{12}$, Oc. 2.

Fig. 14. Riesenzelle mit Strahlenpilzherd aus einem Nierentuberkel, 21 Tage nach intraarterieller Injection von Timotheepilzen (Kan 14). Färbung: Weigert's Fibrinmethode, Hämatoxylin, van Gieson, Einzelne Kolben gelb. Vergr. Zeiss $^1/_{12}$, Oc. 2.

Fig. 14a. Strahlenpilzherd mit Leukocytenwall aus einem Nierenherd (Kan. 17). 33 Tage nach intraarterieller Injection von Timotheepilzen. Färbung Hämatoxylin, van Gieson, Vergr. Zeiss $^1/_{12}$, Oc. 2.

Fig. 15. Aus einem Nierenherd. 6 Tage nach Impfung mit Mistpilzen (Kan. 18). Färbung nach Birch-Hirschfeld. Vergr. wie in Fig. 14.

Fig. 16. Echte Verzweigungen und Kolbenbildungen aus einer $2^3/_4$ Monate alten Agarcultur von Vogeltuberculose. Vergr. Zeiss $^1/_{12}$, Oc. 4.

Fig. 17. Echte Verzweigungen und Kolbenbildungen aus einer 5 Tage alten Agarcultur des Möller'schen Graspilzes. Vergr. wie in Fig. 16.

Fig. 18. Nierentuberkel 13 Tage nach Impfung mit Timotheepilzen (Kan. 14). *Rz* = Riesenzellen. Vergr. Zeiss C, Oc. 2.

Fig. 19. Subseröser Tuberkel des Dünndarmes mit centraler Verkäsung 25 Tage nach Impfung von Timotheepilzen in Leber und Peritoneum (Kan. 15). Vergr. wie in Fig. 18.



[Aus dem hygienischen Institut der Universität zu Halle a/S.]

Ueber das Vorkommen des Meningococcus intracellularis bei eitrigen Entzündungen der Augenbindehaut.

Von

Prof. **Carl Fraenkel**
in Halle a/S.

Die infectiösen Entzündungen der Augenbindehaut haben gerade in letzter Zeit durch hervorragende Ophthalmologen, unter denen nur Uhthoff und Axenfeld genannt seien, eine eingehende Bearbeitung auch nach der ätiologischen Seite erfahren, und bei der Prüfung mit Hülfe der bakteriologischen Untersuchungsmittel sind uns werthvolle Einblicke in ihre Entstehungsweise eröffnet worden. So können wir nach den erregenden Mikroorganismen schon heute bestimmte Gruppen derartiger Erkrankungen von einander sondern. Bei der eiterigen Conjunctivitis, der sogenannten Blennorrhöe beispielsweise müssen wir nach der Aufstellung von Axenfeld[1] die folgenden Hauptformen unterscheiden: 1. die durch den Gonococcus bedingte und häufigste; 2. die durch den Pneumococcus; 3. die durch den Bacillus von Koch und Weeks; 4. die durch den Diplobacillus von Morax und Axenfeld hervorgerufene. Seltener erscheinen bei der Entwickelung eiteriger Katarrhe andere Bakterien betheiligt, unter denen Axenfeld[2] den Bacillus coli, den Diphtheriebacillus und endlich eine Art von „intracellulären Diplokokken" erwähnt, die nach ihrem Aussehen und ihrer Lagerung leicht mit den Gonokokken verwechselt werden können, sich im Gegensatz zu den letzteren aber der Gram'schen Methode zugänglich erweisen. Axenfeld ist deshalb geneigt, diese

[1] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1898. S. 698.
[2] A. a. O.



„Pseudogonokokken“ als gewöhnliche Staphylokokken anzusprechen und hebt in diesem Zusammenhange auch hervor, dass die fraglichen Bakterien bei Zimmertemperatur und auf unseren gebräuchlichen Nährböden gedeihen.

Nun darf das Vorkommen der Staphylokokken bei eiterigen Entzündungen der Augenbindehaut nicht bezweifelt werden, und nach eigenen Untersuchungen auf diesem Gebiete, zu denen uns das Material der hiesigen Augenklinik und die Liebenswürdigkeit ihres Leiters, des Hrn. Professors von Hippel, vielfache Gelegenheit giebt, kann ich bestätigen, dass sich die genannten Mikroorganismen bei der Blennorhöe mitunter in sehr reichlichen Mengen finden und dass sie nicht selten in den protoplasmatischen Leib der Leukocyten vordringen, also auf den ersten Blick das Bild der Gonokokken vorzutäuschen vermögen.

Während aber diese Staphylokokken und ebenso die Pneumokokken, die sich gleichfalls zuweilen im Inneren der Zellen zeigen, schon durch ihre Färbbarkeit nach Gram und namentlich durch ihr culturelles Verhalten alsbald einen derartigen Irrthum widerlegen, scheint unter Umständen noch ein anderer Mikroorganismus in der Rolle der „Pseudogonokokken“ auftreten zu können, der einer Unterscheidung grössere Schwierigkeiten bereitet und auf den ich mit den folgenden kurzen Zeilen deshalb die Aufmerksamkeit der betheiligten Kreise hinlenken möchte.

Am 2. Januar d. J. kam in die Behandlung der ophthalmologischen Poliklinik ein $1^1/_2$ Jahre altes Kind (Mädchen), das eine ziemlich starke Schwellung, Röthung und eiterige Absonderung der linken Bindehaut aufwies. Ausserdem aber war ein erheblicher Theil der letzteren mit häutigen Auflagerungen bedeckt, die freilich leicht abhebbar, dünn und zerreisslich waren, immerhin jedoch an diphtheritische Erzeugnisse erinnerten und jedenfalls zu genaueren Ermittelungen nach dieser Richtung aufforderten. Wir fertigten deshalb einmal Deckgläschen für die mikroskopische Untersuchung an und beschickten daneben Serumplatten und -Röhrchen mit kleinen Stückchen der Membranen. Die Präparate liessen bei der Färbung mit Methylenblau ungeheuere Mengen von kleinen Diplokokken erkennen, die nahezu sämmtlich im Inneren der Leukocyten ihren Sitz hatten, deren Leib vielfach völlig ausfüllten und auch in den Kern eingebrochen waren, während die Culturen nach 24stündigem Aufenthalt im Brütschrank ausser spärlichen Keimen des gelben Eitererregers kein Wachsthum zeigten. Es wurden nun sofort neue Abimpfungen vorgenommen, dieses Mal aber, da der mikroskopische Befund den Verdacht auf das Bestehen einer gonorrhoischen Infection zu rechtfertigen schien und nach eigenen[1] früheren Erfahrungen auch das Krankheitsbild der

[1] C. Fraenkel, *Hygienische Rundschau.* 1898. S. 313.

gleichen Vermuthung wohl entsprach, als Nährböden ausser dem einfachen Löffler'schen Serum mit menschlichem Blut bestrichene Substrate, und zwar Serum und Glycerinagar verwendet. Am nächsten Tage waren hier ungemein zahlreiche, ganz kleine, völlig durchsichtige Colonieen zur Entwickelung gelangt, die ohne Zweifel den massenhaften Kokken des Deckglaspräparates entsprachen und nach weiteren Prüfungen dem zuerst von Weichselbaum,[1] dann von Goldschmidt,[2] Jäger[3] u. s. w. beschriebenen sogenannten Diplococcus intracellularis der Meningitis angehörten. Um diese Behauptung zu begründen, sollen im Folgenden zunächst die morphologischen und biologischen Eigenschaften unseres Mikroorganismus näher geschildert werden.

Wie schon erwähnt, zeigten die Kokken in den vom Eiter angefertigten Ausstrichen eine intracelluläre Lagerung, hatten nicht selten sogar im Kerne selbst ihren Platz, und diese Anordnung blieb überhaupt die vorherrschende, obwohl im weiteren Verlaufe der Dinge auch ausserhalb der Leukocyten mehr oder minder dichte Schwärme auftauchten. War so eine Verwechselung mit den Gonokokken ohne Zweifel sehr nahegerückt, so liess eine aufmerksame Prüfung doch alsbald schon im einfachen Deckglaspräparat einen gewissen, freilich wohl nur dem geübten Auge erkennbaren Unterschied hervortreten, insofern als sich die Mikrobien zwar als paarweise verbundene und nur durch einen schmalen Spalt getrennte, „semmelförmige“ oder das Bild der doppelten Kaffeebohne darbietende Diplokokken darstellten, das einzelne Glied aber etwas länger und schlanker erschien, als dort. Die von manchen Seiten betonte Neigung zur Lagerung in Tetraden machte sich hier nur ausnahmsweise geltend, mochte das Material nun aus dem Eiter oder aus den künstlichen Culturen stammen; dagegen lieferten die letzteren häufig die kurzen, z. B. von Jäger beschriebenen Ketten von 6 bis 8 Einzelzellen, an denen auch die Theilung in der Längsaxe auffiel.

Eine Kapsel, d. h. ein heller, ungefärbter Saum trat besonders an den freien Exemplaren und bei Benutzung enger Blenden öfters hervor; doch bin ich mit Kiefer[4] der Ansicht, dass es sich hier nicht um eine eigentliche Verdickung der äusseren Hülle, sondern allein um eine dünne Schleimschicht handelt, die der Oberfläche der Kokken als ungleichmässiger Ueberzug anhaften kann.

Von nicht geringer Wichtigkeit für unseren Fall ist ferner das feinere färberische Verhalten, namentlich die Anwendbarkeit der Gram'schen

---

[1] Weichselbaum, *Fortschritte der Medicin.* 1887. S. 573.

[2] Goldschmidt, *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. II. S. 649.

[3] Jaeger, *Diese Zeitschrift.* Bd. XIX. S. 351.

[4] Kiefer, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1896. S. 628.

Methode. Während diesem Verfahren der Gonococcus bekanntlich nicht zugänglich ist, der dem Meningococcus ebenfalls nahestehende Pneumococcus dagegen ohne Schwierigkeit gehorcht, gehen über jenen selbst die Ansichten der Forschung noch aus einander, und neben Berichten über ein positives Ergebniss der Färbung auch nach Behandlung mit Jodjodkali und Alkohol finden sich etwa ebenso viele negative. Nach unseren eigenen Untersuchungen nimmt der Mikroorganismus nun in der That eine gewisse Mittelstellung ein, die besonders die aus den Reinculturen stammenden Präparate erkennen lassen. Bei der einfachen Gram'schen Methode und unter Beobachtung der üblichen Zeit bleibt ein Theil der Kokken stets noch gefärbt, und erst bei längerer Dauer der Entfärbung oder bei Benutzung stärkerer Verfahren, so namentlich des von Nicolle[1] angegebenen mit Acetonalkohol, tritt vollständiger Verlust der Färbung ein. Zum sicheren Nachweis der Kokken aus dem Eiter u. s. w. ist diese Art der Doppelfärbung aber deshalb gewiss nicht am Platze, und man wird sich entweder mit der einfachen Färbung, die auch durchaus befriedigende Resultate liefert, begnügen oder zu anderen Mitteln greifen, auf das Jod und den Alkohol aber verzichten müssen.

Als besonders brauchbar für diesen wie für die meisten übrigen Fälle, in denen es sich um die Darstellung solcher Bakterien im Eiter und Gewebssaft handelt, die die Gram'sche Methode ablehnen, also beispielsweise auch der Gonokokken, kann ich die Färbung nach Pick und Jacobsohn[2] mit einer kleinen Modification empfehlen. Mischt man nach der Vorschrift 20 ccm Wasser mit 8 Tropfen gesättigter Methylenblaulösung, dann aber anstatt mit 15 mit 45 bis 50 Tropfen, also der dreifachen Menge, Carbolfuchsin und lässt diese Flüssigkeit etwa 5 Minuten lang auf das Deckgläschen einwirken, so bleiben nur die Mikroorganismen blau, alle übrigen Theile des Präparates aber nehmen den rothen Farbstoff auf, auch die Kerne der Leukocyten, die nach Pick-Jacobsohn blau erscheinen. Besser und sicherer als mit Hülfe irgend einer anderen „einzeitigen Doppelfärbung", einschliesslich des neuerdings von Lanz[3] beschriebenen Verfahrens, erzielt man deshalb hier eine isolirte Bakterienfärbung mit scharfer gegensätzlicher Tinction der Umgebung, und die Entdeckung selbst einzelner verstreuter Mikrobien wird dadurch ungemein erleichtert.

Erst solche Präparate gewähren eine rechte Vorstellung von der Stärke und Ausdehnung der Infection, die in unserem Falle einen ausserordentlich hohen Grad erreichte. In manchen Gesichtsfeldern waren nahezu sämmt-

[1] Nicolle, *Annales de l'Institut Pasteur*. T. IX. p. 664.
[2] Pick u. Jacobsohn, *Berliner klin. Wochenschrift*. 1896. S. 811.
[3] Lanz, *Deutsche med. Wochenschrift*. 1898. S. 637.



liche Leukocyten bis an den Rand vollgestopft mit Diplokokken, und auch in etwas freieren Bezirken bot doch mindestens die Hälfte der Eiterzellen noch das gleiche Bild. Bei Meningitis habe ich bisher niemals etwas Derartiges beobachtet, und bemerkenswerther Weise betrifft auch die einzige, in der Litteratur verzeichnete ähnliche Angabe[1] nicht eine Erkrankung der Hirnhäute, sondern die Ansiedelung des Coccus auf einer äusseren Schleimhaut, der der Nase nämlich.

Was das Wachsthum unserer Diplokokken auf den verschiedenen künstlichen Nährböden angeht, so wurde bereits erwähnt, dass seine Cultur anfänglich nur auf mit menschlichem Blut bestrichenem Agar und Zuckerserum gelang. Es entstehen hier bei Blutwärme in 24 Stunden ganz kleine, zarte, farblose und völlig durchsichtige Colonieen, die in den nächsten Tagen nur noch wenig an Umfang gewinnen und in der Regel höchstens Stecknadelkopfgrösse erreichen. Auch in Blutbouillon findet gute Entwickelung statt; die Flüssigkeit trübt sich im Ganzen, zeigt aber ausserdem fast immer eine Anzahl von gröberen Häufchen und Flocken, die sich bei mikroskopischer Untersuchung im hängenden Tropfen als ungemein dichte, fest zusammengeballte Massen des Coccus darstellen. Auf allen nicht mit Blut beschickten Substraten versagte der Mikroorganismus zunächst. Selbst die Aussaat reichlicher Mengen blieb ohne Erfolg, und erst allmählich machte sich eine dann weiter fortschreitende Anpassung und Gewöhnung bemerkbar, so dass jetzt Culturen auch auf blutfreiem Serum, Glycerinagar, Agar und ebenso in Bouillon erzielt werden. Immerhin kommen doch zuweilen noch Fehlschläge vor, die Uebertragung missglückt, und eine sichere, ununterbrochene Reihe von Generationen erfordert immer noch die Verwendung der Blutböden. Auf Kartoffeln und in Milch konnte eine Entwickelung nicht wahrgenommen werden. Da der Mikroorganismus nur bei Blutwärme gedieh, so erwies sich ferner auch die Gelatine als untauglich.

Frische Culturen in Blutbouillon wurden dann zur Ausführung von Thierversuchen benutzt, die sämmtlich ein negatives Ergebniss lieferten. Krankhafte Veränderungen liessen sich weder durch Einspritzung von 1 bis 2 ^{ccm} in das Unterhautzellgewebe (Mäuse, Meerschweinchen, Kaninchen), noch in die Bauch- oder Brusthöhle (Mäuse und Meerschweinchen), noch endlich in die Blutbahn (Kaninchen) hervorrufen, die Thiere überstanden alle diese Ereignisse vielmehr ohne jeden erkennbaren Schaden.

Ist der damit geschilderte Mikroorganismus nun in der That mit dem von Weichselbaum und Jäger beschriebenen Diplococcus intracellularis

[1] Kiefer, a. a. O.



oder Meningococcus identisch? Zur Beantwortung dieser Frage, deren stillschweigende Bejahung wir in unseren bisherigen Ausführungen bereits vorausgesetzt haben, die aber doch noch eine besondere Erörterung verlangt, wird ein Vergleich mit den in der einschlägigen, schon recht umfangreichen Litteratur verzeichneten Angaben erforderlich sein, wobei freilich betont sei, dass es um so weniger Zweck dieser kurzen Mittheilung sein kann, die angezogenen Arbeiten im Einzelnen zu nennen und zu besprechen, als gerade unter den Veröffentlichungen der letzten Zeit mehrere, wie z. B. die Aufsätze von Hünermann,[1] Schiff,[2] Mayer[3] eine sehr vollständige Uebersicht über das ganze Gebiet bringen und eine abermalige Zusammenstellung entbehrlich machen. Wir dürfen uns hier vielmehr zunächst auf die Bemerkung beschränken, dass die morphologischen Eigenschaften unseres Coccus in allen wesentlichen Stücken mit den von anderer Seite festgestellten übereinstimmen, dass dagegen das culturelle und pathogene Verhalten nicht unerhebliche Abweichungen hervortreten lassen.

Was den ersten Punkt betrifft, so betont die Mehrzahl der bisherigen Untersucher, dass der Meningococcus im Gegensatz zum Gonococcus, aber sogar zum Pneumococcus durch reichlicheres und rascheres Wachsthum auf unseren künstlichen Substraten, sowie durch längere Erhaltung der Lebensfähigkeit ausgezeichnet sei, auf gewöhnlichem Agar, Glycerinagar und Zuckerserum, ja sogar auf Kartoffeln und Gelatine gedeihe und hier Colonieen von der Grösse eines Hanfkornes oder selbst einer Erbse, bezw. einen üppigen, dicken, weissgrauen oder gelblichen Rasen bilde, während wir gerade die umgekehrte Erscheinung, eine besonders zarte und empfindliche Art der Entwickelung wahrnehmen konnten. Doch fehlt es auch an solchen Beobachtungen in der vorliegenden Litteratur nicht ganz: Weichselbaum z. B. weist ausdrücklich auf das geringfügige Wachsthum, sowie das rasche Erlöschen der Uebertragbarkeit hin, Heubner[4] hat in seinen beiden ersten Fällen eine Cultur auf Agar nicht erzielt, Kister[5] auf Glycerinagar ein negatives Ergebniss erhalten und erst auf Menschenblut- und Rinderblutagar bessere Erfolge erreichen können. Ich muss auch gestehen, dass ich Mittheilungen gegenüber, wie der von Urban[6] und der von Hünermann herrührenden, wo rasches Wachsthum auf Gelatine mit Verflüssigung dieses Nährbodens und Bildung eines goldgelben Farbstoffes

---

[1] Hünermann, *Zeitschrift für klin. Medicin.* Bd. XXXV. S. 436.
[2] Schiff, *Centralblatt für innere Medicin.* 1898. S. 577.
[3] Mayer, *Münchener med. Wochenschrift.* 1898. S. 1111.
[4] Heubner, *Jahrbuch für Kinderheilkunde.* XLIII. 1.
[5] Kister, *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XX. S. 148.
[6] Urban, *Ebenda.* Bd. XXIII. S. 608.

beschrieben wird, ernste Bedenken an der Richtigkeit des Befundes, d. h. an der Uebereinstimmung des gezüchteten Mikroorganismus mit dem echten Meningococcus nicht zu unterdrücken vermag.

Immerhin wird man erhebliche Schwankungen in cultureller Beziehung bei diesem Bakterium ohne Weiteres anerkennen müssen, und ganz das Gleiche gilt schliesslich auch von der pathogenen Wirkung. Meist wird dem Diplococcus die Fähigkeit zugesprochen, bei den gebräuchlichen Versuchsthieren nach Einspritzung in die Brust- und Bauchhöhle eine eiterige Pleuritis bezw. Peritonitis auszulösen. Aber von dieser Regel kommen doch häufige Ausnahmen vor, und Kamen,[1] Kiefer, Schiff z. B. haben wie wir die Erfahrung gemacht, dass es unter Umständen überhaupt nicht gelingt, irgend welche krankhaften Erscheinungen hervorzurufen.

Die zwischen unserem und den sonst gewonnenen Stämmen vorhandenen Differenzen sind nach alledem also kaum geeignet, begründete Zweifel an der Zuverlässigkeit der Artbestimmung zu rechtfertigen, und die Ueberzeugung, dass wir hier den Diplococcus intracellularis vor uns haben, erhält eine weitere Stütze durch die Thatsache, dass der Coccus von den übrigen etwa in Betracht kommenden Bakterien noch durch sehr viel stärkere Unterschiede abgegrenzt ist: vom Gonococcus durch Gestalt, langsamere Entfärbung nach Gram, allmählich Gewöhnung an die einfachen Nährböden, vom Pneumococcus durch die Form, das Fehlen der Kapsel, die raschere Entfärbung nach Gram, die Anfangs ausschliessliche Vermehrung auf bluthaltigen Substraten und die mangelnde Virulenz für die gebräuchlichen Versuchsthiere. Erwähnt sei in diesem Zusammenhange beiläufig auch noch, dass ich das neuerdings von Bezançon[2] angegebene Merkmal zur Trennung von Pneumococcus und Meningococcus, das gleichmässigere Wachsthum des ersteren, das klumpige des letzteren im Blutserum von jungen Kaninchen ebenfalls bestätigen konnte.

In welchen Beziehungen steht der Meningococcus nun zu dem hier beobachteten Krankheitsbilde, kann er als Erreger der eiterigen und membranösen Entzündung betrachtet werden, die die von ihm bewohnte Augenbindehaut ergriffen hatte? Ich glaube, dass diese Frage auf das Bestimmteste bejaht werden darf. Einmal traten, wie erwähnt, die Kokken von vornherein in ganz gewaltigen Mengen auf und beherrschten bald die Scene in so entschiedenem Maasse, dass alle anderen Bakterien neben ihnen verschwanden und zu wiederholten Malen bei den späteren Abimpfungen sofort vollständige Reinculturen erhalten wurden. Ferner zeigten sich

[1] Kamen, *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXIV. S. 555.

[2] Bezançon, *Sem. méd.* 1898. p. 501.

diese Bakterien aber mit dem gesammten Verlaufe des pathologischen Processes auf das Innigste verknüpft, begleiteten die weitere Entwickelung desselben in unverminderter Zahl und wurden erst mit dem Abklingen der entzündlichen Erscheinungen spärlicher, schliesslich gegen Ende der dritten Woche zugleich mit der erfolgten Heilung ganz vermisst. Endlich und namentlich aber gab sich der pathogene Charakter der Mikrobien dadurch auf das Deutlichste zu erkennen, dass 10 Tage nach der Erkrankung des linken plötzlich auch das bis dahin freie rechte Auge ergriffen wurde, wie jenes Schwellung, Röthung, Eiterung und häutige Auflagerung der Bindehaut und in dem gelieferten Secret sofort wieder die intracellulären Diplokokken in riesigen Massen aufwies, die in ihrem morphologischen, tinctoriellen und culturellen Verhalten durchaus mit den früheren übereinstimmten. Auch hier kam es allmählich zur Heilung, die sich freilich nur langsam vollzog und besonders durch eine starke Neigung der Conjunctiva zu Blutungen verzögert wurde.

Die ursächliche Bedeutung des Meningococcus für die Entstehung derartiger Processe sollte aber alsbald noch eine weitere Bestätigung erfahren. Das bekannte und eigenthümliche Gesetz von der Duplicität der Fälle nämlich spielte uns kurze Zeit darauf, am 14. Januar, eine zweite einschlägige Erkrankung in die Hände, deren Verlauf freilich von dem der erst beobachteten in erheblichstem Maasse abwich. Gleich bei der Aufnahme zeigte sich die Bindehaut bedeckt mit mächtigen, fest haftenden Ein- und Auflagerungen, die ganz das Bild einer diphtherischen Infection vortäuschten und deshalb auch die klinische Diagnose zunächst auf diesen Weg leiteten; schon innerhalb der nächsten Tage kam es dann weiter zu einer vollständigen Vereiterung der Hornhaut, und endlich stellten sich bei dem einjährigen Kinde auch allgemeine Erscheinungen, hohes Fieber, sowie Schwellungen der Hand- und Fussgelenke ein, die ohne Zweifel einen pyämischen Charakter trugen. Die damit gegebene unmittelbare Lebensgefahr ging jedoch vorüber und machte einer freilich ungemein langsamen und schleichenden Genesung Platz, die erst jetzt, fast 8 Wochen nach Beginn des Leidens bezw. Einlieferung des Kranken in die Klinik, zum Abschluss gelangt ist.

Ungeachtet der gewaltigen Verschiedenheiten im klinischen Bilde stimmte der bakteriologische Befund in allen Stücken mit dem früher erhobenen überein. Das Secret zeigte innerhalb der Leukocyten riesige Mengen der durch Gestalt, Grösse, färberische Eigenschaften u. s. w. zur Genüge gekennzeichneten Meningokokken; auf bluthaltigen Nährböden, aber nur auf diesen, entwickelte sich der gleiche Mikroorganismus meist sofort in Reincultur, und wieder machte sich allmählich eine Anpassung an die gewöhnlichen Substrate bemerklich. Besonders hervorgehoben sei,



dass der Langwierigkeit der Erkrankung durchaus die Zähigkeit entsprach, mit der die Mikroorganismen auf der inficirten Bindehaut hafteten. Bei einer am 3. März vorgenommenen Untersuchung liessen sie sich noch ohne Weiteres nachweisen, und wenn das mikroskopische Präparat auch wohl eine beträchtliche Verminderung in der Zahl der Kokken, verglichen mit der ursprünglichen Ueberfülle, zeigte, so lieferte doch die Cultur auf Blutagar immerhin einen üppigen und von anderen Bakterien freien Rasen.

An diesen zweiten reihte sich nun endlich noch ein dritter und letzter Fall. Wie die beiden ersten betraf er ein Kind, einen $1^1/_2$jährigen Knaben, der am 31. Januar mit einer schweren, auch hier wieder durch dicke Auf- und Einlagerungen complicirten Entzündung der rechten Conjunctiva in die Klinik eintrat. Im Ausstrich fanden sich reiche Mengen der mit den spitzen Enden einander zugekehrten lancettförmigen, kapseltragenden, nach Gram färbbaren und also ohne Weiteres kenntlichen Pneumokokken, und bei der Züchtung ergab sich ganz das gleiche Resultat. In der dritten Woche aber änderte sich das Bild plötzlich: an Stelle der Pneumokokken erschienen die Meningokokken, und neben der Form und Anordnung machte uns namentlich die intracelluläre Lagerung der letzteren auf den Wechsel aufmerksam, den eine genauere Untersuchung dann über jeden Zweifel erhob. Die schon bei der Aufnahme getrübte Hornhaut bedeckte sich dann im Verlaufe der Erkrankung mit kleinen Geschwüren, die jedoch nach mehreren Wochen unter lebhafter Vascularisation von Seiten der Umgebung zur Heilung gelangten und mit dem Verschwinden der entzündlichen Erscheinungen auf der Conjunctiva schliessliche Genesung eintreten liessen.

Das Kind hatte mit dem vorigen ein Zimmer getheilt, und obwohl es über eigene Geschirre, Instrumente, Verbandstoffe, ja sogar eine besondere Pflegerin verfügte, so wird man doch nach Lage der Dinge kaum daran zweifeln können, dass sich hier eine Uebertragung von dem einen Kranken zum anderen vollzogen. Vermuthlich hat es sich dabei um eine Kontactinfection gehandelt, die trotz aller Vorsichtsmaassregeln irgendwie zu Stande gekommen war; aber daneben wird man doch auch an die Möglichkeit einer Luftinfection durch feinste Stäubchen denken müssen, die nach den Untersuchungen von M. Neisser[1] gerade beim Meningococcus nicht ausgeschlossen ist.

Unsere Beobachtungen haben also gezeigt, dass der Meningococcus infectiöse Entzündungen verschiedenen Grades auf der menschlichen Bindehaut hervorzurufen vermag und damit eine Erwartung bewahrheitet, der

[1] M. Neisser, *Diese Zeitschrift*. Bd. XXVII. S. 175.

Axenfeld[1] schon in seinem letzten Jahresbericht bestimmten Ausdruck gegeben hat. Hält man mit dieser Thatsache zusammen, dass der nämliche Mikroorganismus auch bei Erkrankungen anderer Schleimhäute, z. B. bei Fällen von Rhinitis und Otitis (Jäger,[2] Schiff,[3] Kiefer[4]) wiederholentlich gefunden worden ist, dass er endlich sogar in der gesunden Nase kein ganz seltener Gast zu sein scheint (Heubner,[5] Slawyk,[6] Scherer,[7] Schiff), so wird man sich gewiss der gleichen Vorkommnisse beim Pneumococcus erinnern und darauf gefasst sein müssen, in Zukunft noch weiteren Beweisen für diese Uebereinstimmung zu begegnen. Für die Praxis aber erwächst daraus die Mahnung, ja die Nothwendigkeit, in allen derartigen Fällen nicht nach dem mikroskopischen Präparat allein die Diagnose zu stellen und namentlich die Anwesenheit des Gonococcus oder auch des Pneumococcus zu behaupten, sondern die feineren Hülfsmittel der Untersuchung zu Rathe zu ziehen und dann erst ein endgültiges Urtheil abzugeben.

[1] Axenfeld, *Ergebnisse der allgemeinen Pathologie und pathol. Anatomie* von Lubarsch u. Ostertag. Bd. III. S. 573.

[2] Jäger, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1894. S. 409.

[3] Schiff, a. a. O.

[4] Kiefer, a. a. O.

[5] Heubner, *Münchener med. Wochenschrift.* 1897. S. 520.

[6] Slawyk, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1897. Vereins-Beilage. S. 109.

[7] Scherer, *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XVII. S. 441.

Ueber die Gesundheitsverhältnisse der Metallschleifer im Kreise Solingen.

Von

Dr. **Moritz**, Kreisphysikus in Solingen.
und
Dr. **Röpke**, Specialarzt f. Hals-, Nasen- u. Ohrenleiden in Solingen.

Den mittelbaren Anlass zu den nachstehenden Ausführungen und den ihnen zu Grunde liegenden Erhebungen gab uns die bereits seit Langem gemachte Erfahrung, dass die Sterblichkeit gerade in dem Schleiferstande eine ungemein grosse ist. Zu der Ergründung der Ursachen dieser Sterblichkeit beizutragen, soll der Zweck dieser Arbeit sein.

Da unsere Erhebungen über Schleifer sich ausschliesslich auf unsere Solinger Industrie beziehen, so beschränken wir uns in den nachstehenden Auseinandersetzungen völlig auf die Schilderung der hiesigen Verhältnisse.

Die maschinell geformte und danach gehärtete Waare kommt zum Schleifer. Das Schleifen[1] geschieht trocken oder nass. Eine Minderzahl von Schleifern (Schwert- und Gabelschleifer) arbeitet vorwiegend an trockenen Steinen; die grössere Zahl (Messer- und Scheerenschleifer) arbeitet am nassen Stein und giebt den feineren Schliff und die Politur grösstentheils trocken an Pliesst- und Polirscheiben. Letztere Gruppe, die sich uns als Nassschleifer zu bezeichnen pflegte, arbeitet also nass und trocken.

Zur Gruppe der Trockenschleifer gehören auch die Polirer und Ausmacher. Die Zahl der Arbeiter, dis nur poliren, ist relativ gering und findet sich nur in wenigen Branchen (z. B. Schwertpolirer). Die „Aus-

[1] In Betracht kommen in Solingen vorwiegend Schneidwaaren (Messer, Scheeren, Schwerter); ausserdem Gabeln; ferner Bügel, Schlüssel und Korkzieher.



macher" glätten und poliren bei den bereits zusammengesetzten Taschenmessern Rücken und Schalen auf Steinen bezw. „Pliesstscheiben", so dass aus ihren Händen das zum Verkauf fertige Stück hervorgeht.

Das Schleifen im engeren Sinne geschieht auf Sandsteinen, die je nach der Waare an Qualität und Grösse (0·3 bis 3 m) differiren. Auf diesen Steinen wird (s. o.) trocken und nass geschliffen. — Die so geschliffenen Stücke werden weiter bearbeitet auf der sog. „Pliesstscheibe". — Die Grobpliesstscheibe, an der trocken gearbeitet wird, ist eine Holzscheibe, die an der Peripherie einen aufgeleimten Lederbelag hat, welcher mit einer gröberen Schmirgelmasse überzogen ist. — Mit dem Grobpliessten ist die Bearbeitung geringerer Qualitäten beendet. Feinere Sachen kommen noch auf die Feinpliesstscheibe, welche einen feineren Schmirgelbelag hat, und auf welche beim Gebrauch Oel gestrichen wird.

Endlich wird die Waare polirt. Hierzu dienen Holzscheiben mit einer Bürste am Rande, oder Holzscheiben mit Lederbezug. Als Polirmittel dient: bei den Bürstenscheiben „Wiener Kalk", der mit irgend einem Bindemittel zu Brei verrührt und auf die Bürste aufgetragen wird, bei den Lederscheiben ein in Breiform gebrachtes Polirpulver („Polirfuchs").

Der Solinger[1] Schleifer (mit Ausnahme des Schwertschleifers, welcher meist stehend arbeitet), sitzt vorgebeugt auf einem Schemel vor dem Stein oder der Scheibe, stemmt den Ellenbogen auf die Kniee und drückt mit vorgestreckten Händen den zu schleifenden Gegenstand gegen den rotirenden Stein oder die Scheibe.

Die neu „eingehängten" (auf die Axe gesteckten) Steine, deren Oberfläche theils unregelmässig gestaltet, theils allzu rauh ist, werden durch Gegenhalten eines meisselähnlichen Instrumentes, während sie rotiren, zum Gebrauch geschickt gemacht. Dieses Fertigstellen, welches stets trocken geschieht, heisst „Ritzen". Unter „Ritzen" versteht man ausserdem noch das Wiederrauhmachen des durch den Gebrauch allzu glatt gewordenen Steines.

Nach den Erhebungen des Hrn. Landrath Dönhoff-Solingen (18) gab es im Jahre 1895 im oberen Kreise Solingen 189 Schleifereibetriebe. Darunter waren:

[1] Ueber das Schleifen in Sheffield vergl. Arlidge (12), p. 324: „The first part of the work is done on a rapidly-revolving grindstone, the article to be ground being held by the hands against it with more or less pressure, the workman sitting astride in front upon a bench called a horsing, and leaning forward, to a greater or less extent over the stone, with the elbows resting on the knees."



1. mit Wasserkraft	63
2. „ Dampfkraft	107
3. „ Wasser- und Dampfkraft	7
4. „ Gasbetrieb	12
	189.[1]

Die Grösse der Schleifereibetriebe vertheilte sich wie folgt:

bis 10 Stellen	hatten	50 Betriebe,
11 „ 25 „	„	58 „
26 „ 50 „	„	38 „
51 „ 100 „	„	32 „
über 100 „	„	11 „
		189 Betriebe.

Nach einer von den Vorständen der Schleifervereine im Jahre 1898 aufgestellten Statistik, bei der freilich mehrere Betriebe unberücksichtigt geblieben sind, betrug die Gesammtzahl der im Schleifergewerbe beschäftigten Personen 4027. Davon waren:

Tabelle I.

1. Meister	2716	(= 67·4 Procent)
Gesellen	469	(= 11·6 „)
Lehrlinge . . .	842	(= 21·0 „)
	4027	
2. Schwertschleifer	51	(= 1·2 Procent)
Scheerenschleifer . . .	1148	(= 28·5 „)
Messerschleifer	2091	(= 51·9 „)
Gabelschleifer	213	(= 5·3 „)
Ausmacher und Polirer .	524	(= 13·0 „)
	4027.[2]	

Der grösste Theil der Meister arbeitet völlig selbständig, d. h. er miethet von einem Schleifereibesitzer eine Schleifstelle und die Trieb-

---

[1] Die Zahl der „Kotten" betrug:

1832: 89 v. Hauer (1).
1853: 100 Melbeck (2).
1860: 105 Derselbe.

[2] Die Zahl der Schleifer betrug:

1860: 1581 Melbeck (2).
1875: 1846 Oldendorff (10).
1885: 3007 Dönhoff (18).
1895: 3727 Derselbe.

kraft.[1] — Der Meister verschafft sich Aufträge von den Fabrikanten und erledigt diese entweder allein oder mit Hülfe von Gesellen und Lehrlingen. Häufig arbeiten die Söhne, ehe sie sich selbständig machen, unter dem Vater. In einer sehr kleinen Zahl grösserer Fabriken sind Schleifer unter Leitung von Werkmeistern als Lohnarbeiter beschäftigt.

Das früher durch das Zunftwesen bedingte Zusammenhalten der Schleifer besteht auch jetzt noch, freilich in geringerem Grade, fort; es zeigt sich in der Neigung, unter einander zu heirathen, und in dem immer noch bestehenden Bestreben der Schleifer, ihre Söhne wieder Schleifer werden zu lassen.[2] So waren unter den von uns untersuchten Schleifern 37·4 Procent Söhne von Schleifern.[3]

Der Nachwuchs der Schleifer, die Lehrlinge, erschienen uns durchweg gesund und kräftig. Dieser Eindruck wird uns verstärkt durch das Ergebniss der Aushebungen zum Militärdienst.

Unter den von uns untersuchten Schleifern im Alter von 26 bis 30 Jahren hatten gedient 49·3 Procent. — In den Jahren 1891 und 1892 wurden in Solingen ausgehoben:

überhaupt	48·9	Procent der Gestellungspflichtigen,
von den Schleifern	51·2	„ „ „

Im deutschen Reiche wurden ausgehoben rund 55 Procent. Dass die Solinger Ziffer unter diesem Durchschnitt steht, dürfte sich aus der grossen Zahl der mit Erfolg gemachten Reclamationen erklären. So waren unter den von uns untersuchten Schleifern 12·2 Procent auf Reclamation vom Militärdienst befreit.

Diesem relativ günstigen Bilde steht nun aber folgende Mortalität gegenüber.

Nach den Erhebungen von Melbeck (2) über die Zeit von 1848 bis 1873 starben durchschnittlich von den über 20 Jahre alten Metallschleifern im Alter von Jahren:

---

[1] Kleine Wasserkotten gehören vielfach noch, wie dies früher ausschliesslich der Fall war, einem oder mehreren Schleifern gemeinsam.

[2] Zünfte bestanden bis zu Anfang dieses Jahrhunderts; doch suchten die Schleifer bis in die fünfziger Jahre hinein ihre alten Privilegien geltend zu machen, indem sie die nicht von Schleifern abstammenden Schleifer, die sogen. „Wilden“, in jeder Weise zu schädigen bemüht waren.

[3] Oldendorff (10) S. 42 fand, dass von den gestorbenen Schleifern die Väter Schleifer gewesen waren:

in den Jahren	1811—1829	in	94·5 Procent,
„ „	1830—1849	„	84·3 „
„ „	1850—1869	„	61·7 „
„ „	1870—1874	„	52·0 „



Tabelle II.

20—30	31—40	41—50	51—60	61—70	71—80	über 80	Summa:
29·29	30·39	19·13	14·45	5·8	1·49	0	100·55 %

Die Mortalität der Schleifer über 20 Jahre war der gleichen Quelle zufolge 25 pro mille, die Mortalität in Solingen unter der übrigen männlichen Bevölkerung über 20 Jahre 12·6 pro mille.

Oldendorff (10) giebt folgende Zahlen: Von 100 in den Jahren 1850 bis 1874 über 20 Jahre alt gestorbenen Metallschleifern standen im Alter von Jahren:

Tabelle III.

20—30	31—40	41—50	51—60	61—70	71—80	81—90
31·6	26·9	23·4	11·9	4·9	1·2	0·1 %

Von 100 über 20 Jahre alt gestorbenen männlichen Personen Solingens standen im Alter von Jahren:

Tabelle IV.

20—30	31—40	41—50	51—60	61—70	71—80	81—90
15·5	12·1	14·0	17·0	19·5	16·0	5·9 %

Nach den Ergebnissen der Umfrage des Hrn. Landrath Dönhoff (18) starben in den Jahren 1885 bis 1895 durchschnittlich von 1000 Lebenden im Alter von Jahren:

Tabelle V.

	14—20	21—30	31—40	41—50	über 50	Summa:
Schleifer u. Ausmacher	1·16	3·84	5·14	5·5	4·6	20·62
Andere	1·0	1·8	1·7	2·5	7·1	13·6

In früherer Zeit, als ausschliesslich mit Wasserkraft gearbeitet wurde und die Schleifer nebenher noch ein Stückchen Acker bebauten, ausserdem bei niedrigem Wasserstande nicht selten zu feiern gezwungen waren, mögen die gesundheitlichen Verhältnisse bessere gewesen sein. Die grössere Verbreitung der Dampfkraft als treibender Kraft hatte die Entstehung grösserer Betriebe und damit ein stärkeres Zusammendrängen der Schleifer bei gleichzeitiger Unabhängigkeit von den Launen der Wasserkraft im Gefolge und öffnete damit, auch ausserhalb der selbstverständlich vorhandenen Unfallgefahren, noch ergiebige Quellen der Gesundheitsschädigung.

Diesem Gange der Dinge entsprechend, bezwecken bis Mitte der 50er Jahre die die Schleifereien betreffenden Polizeiverordnungen ausschliesslich die Verhütung von Unfällen. — Zuerst 1856 machte der damalige Kreisphysikus Dr. Peipers auf die Gefahren des Polirens mit Wiener Kalk aufmerksam und rieth zum Verbot dieser Beschäftigung für jugendliche Arbeiter. Ueber diese Angelegenheit haben eingehende Verhandlungen geschwebt, die aber zu keinem Resultat führten. Im Jahre 1874 richtete Landrath Melbeck (18) nochmals sein besonderes Augenmerk auf die ungünstige gesundheitliche Lage der Schleifer und liess über die Schleifersterblichkeit genaue Erhebungen anstellen, deren Ergebniss zu der Polizeiverordnung vom 7. Juli 1875 führte. Durch diese Polizeiverordnung wurden für das Schleifen an trockenen Steinen und für die zum Bürsten dienenden Scheiben „geeignete“ Ventilationseinrichtungen vorgeschrieben. Die Melbeck'sche (2) (18) Statistik fand bald darauf eine willkommene Ergänzung durch die mühsamen und werthvollen Untersuchungen, die Oldendorff (10) über die Sterblichkeit und Morbidität der Schleifer angestellt und in seinem bekannten Buche niedergelegt hat.

Ein weiterer Schritt wurde 1895 von Hrn. Landrath Dönhoff (18) gethan, welcher in seiner Amtsthätigkeit sehr bald zu der Ueberzeugung gelangt war, dass die bestehenden Vorschriften nicht ausreichten. Er liess zunächst wieder eingehende Ermittelungen über die Sterblichkeit im Schleiferstande anstellen, deren Resultat (s. o.) die gesundheitliche Lage der Schleifer in einem wenig günstigen Lichte zeigte und weitere Schritte nothwendig erscheinen liess. Auf Einladung des Hrn. Dönhoff haben wir sodann in Gemeinschaft mit ihm und den betreffenden Herren Bürgermeistern den grössten Theil der Schleifereien im oberen Kreise Solingen besichtigt und möglichst genaue Kenntniss der in ihnen vorhandenen Einrichtungen und Zustände zu gewinnen gesucht.

Neben einzelnen tadellos zu nennenden Betrieben fanden wir andererseits eine Reihe von Schleifereien, deren Einrichtung und Beschaffenheit, soweit sie für die Gesundheit der Schleifer in Betracht kommen, mangelhaft erschienen. Die Räume waren meist überheizt, zuweilen auch zu kühl, die Luft trocken und schlecht und von dem eigenthümlichen Schleifgeruch gefüllt. In älteren Schleifereien waren die Fussböden in höchst primitiver Art aus Lehm hergestellt oder bestanden aus schlecht zusammengefügten und theilweise brüchigen Dielen und waren gleich den Wänden und Geräthen mit einer dicken Staublage überzogen.

Bei dem von den Schleifern selbst sehr gefürchteten „Ritzen“ der Steine sahen wir den Schleifraum sich mit einer röthlichen Staubwolke füllen, welche sich nur langsam senkte. Wir selbst empfanden nach nur



kurzem Aufenthalt in diesem staubgefüllten Raum noch Stunden lang Hustenreiz. Auch die Ventilationseinrichtungen waren vielfach unzweckmässig angelegt.

Die Staubabsaugung geschieht im Grossen und Ganzen in folgender Weise: Die Steine, an denen trocken geschliffen wird, tragen einen Umhüllungskasten, der von dem Stein nur das zur Arbeit nöthige Stück, etwa den vorderen oberen Quadranten freilässt. Von diesen Kästen führen fast armdicke Rohre zu einem entsprechend weiteren Hauptrohr, welches zum „Exhaustor" leitet. Durch die Thätigkeit dieses Exhaustors, dessen Kraft bei der Anlage natürlich nach der Zahl der anzuschliessenden Schleifstellen zu berechnen ist, wird der von letzteren abgesaugte Staub nach aussen geleitet.

Das Unzweckmässige in der Anlage dieser Ventilationseinrichtung schien uns nun in Folgendem zu bestehen: Die zum Hauptrohr führenden Rohre besassen häufig winkelige Knickungen und trafen meist das Hauptrohr im rechten Winkel. Die bei solcher Rohrleitung vorhandenen Ecken müssen natürlich durch Vermehrung der Luftreibung hinderlich auf die Absaugung des Staubes wirken und dem letzteren Gelegenheit geben, sich im Rohre festzusetzen und durch Verengerung desselben die Ventilationswirkung herabzudrücken. — Das Hauptrohr selbst lag meistens an der Decke des Schleifraumes, so dass die Absaugung des Staubes nach oben, der Richtung seiner Schwere entgegen, die Ventilation erheblich beeinträchtigen musste.

Endlich waren mehrfach, offenbar nachträglich, an ein Hauptrohr mehr Nebenrohre angeschlossen, als bei Berechnung der nöthigen Kraft ursprünglich vorgesehen war. — Vielfach sahen wir auch, dass weniger einsichtige Schleifer, lediglich aus Bequemlichkeitsgründen, ihre Kästen nicht über die Steine gesetzt hatten und somit die vorgeschriebene Ventilation garnicht benutzten. Für die Grobpliesstscheibe war eine Ventilation durch die erwähnte Verordnung überhaupt nicht vorgeschrieben, obwohl die Menge des Staubes, die bei Arbeit an der Grobpliesstscheibe erzeugt wird, eine ziemlich erhebliche ist.

Von der Menge des Schleifstaubes kann man sich einen Begriff aus folgenden Zahlen machen.

Ein Stein von 30 Zoll Durchmesser und 4 Zoll Breite wird bei regelmässiger Benutzung in etwa 4 Wochen auf die Hälfte seines Durchmessers reducirt.

Aus Gewichtsbestimmungen, die auf unsere Anregung gemacht wurden, ergab sich:



Tabelle VI.

1. $^1/_2$ Dutzend grosser Federmesserklingen wog:

gehärtet 84 grm
geschliffen 68 „

Schleifverlust 16 grm = 20 Procent des Gewichtes.

2. $^1/_2$ Dutzend mittelgrosser Federmesserklingen wog:

gehärtet 63 grm
geschliffen 51 „

Schleifverlust 12 grm = 20 Procent des Gewichtes.

3. $^1/_2$ Dutzend kleiner Federmesserklingen wog:

gehärtet 36 grm
geschliffen 29 „

Verlust 7 grm = 20 Procent des Gewichtes.

(Tägliche Durchschnittsleistung eines Schleifers: 100 Klingen.)

4. Eine feine mittelgrosse Scheere wog:

gehärtet 52 grm
geschliffen 37 „

Schleifverlust 15 grm = 28 Procent des Gewichtes.

5. Eine ordinäre Scheere wog:

gehärtet 90 grm
geschliffen 77 „

Schleifverlust 13 grm = 14·4 Procent des Gewichtes.

(Tägliche Durchschnittsleistung: 50 Scheeren.)

6. $^1/_4$ Dutzend Rasirmesserklingen mit starkem Hohlschliff wog:

gehärtet 120 grm
geschliffen 80 „

Schleifverlust 40 grm = $33^1/_3$ Procent des Gewichtes.

7. $^1/_4$ Dtzd. Rasirmesserklingen mit mittelstarkem Hohlschliff wog:

gehärtet 108 grm
geschliffen 82 „

Schleifverlust 26 grm = 24 Procent des Gewichtes.

8. $^1/_4$ Dutzend Rasirmesserklingen mit geringem Hohlschliff wog:

gehärtet 143 grm
geschliffen 119 „

Schleifverlust 24 grm = 16·8 Procent.[1]

(Tägliche Durchschnittsleistung: 35 Klingen mittlerer Qualität.)

[1] Nach Thackrah (3) verlor 1 Dtzd. Rasirmesser von 860 grm durch Schleifen 150·0 grm = 17·4 Procent des Gewichtes.



Nach dieser persönlichen Information an Ort und Stelle arbeitete Hr. Landrath Dönhoff den „Entwurf einer Polizeiverordnung betreffend die Einrichtung und den Betrieb von Schleifereien“ aus, welcher wiederholt in Versammlungen von Interessenten, Gewerbeaufsichtsbeamten und Aerzten durchberathen wurde und mit einigen Aenderungen in Form der nachstehenden Polizeiverordnung am 1. November 1898 in Kraft trat.

Polizeiverordnung,

betreffend die Einrichtung und den Betrieb der Schleifereien.

Auf Grund des § 137 des Gesetzes über die allgemeine Landesverwaltung vom 30. Juli 1883, der §§ 6, 12 und 15 des Gesetzes vom 11. März 1850 und der §§ 120a und 120c Abs. 2 der Reichsgewerbeordnung wird mit Zustimmung des Bezirksausschusses für die Kreise Düsseldorf, Stadt und Land, Mettmann, Elberfeld, Barmen, Lennep, Remscheid und Solingen, Stadt und Land, folgende Polizeiverordnung erlassen:

§ 1. Anlagen mit elementarer Kraft, in denen Metallwaaren geschliffen, gepliesstet, polirt oder mit Scheiben geputzt werden, müssen geräumig und hoch sein und ausreichende, zum Oeffnen geeignete Fensterflächen besitzen.

Bei der Neuanlage oder Erweiterung einer Schleiferei muss in jedem Arbeitsraume die lichte Höhe mindestens $3 \cdot 5^{m}$, die zu öffnende Fensterfläche mindestens $^1/_{12}$ der Fussbodenfläche betragen und es muss für jede beschäftigte Person ein Mindestluftraum von 16^{cbm} vorhanden sein.

§ 2. Die Fussböden müssen fest und dicht sein, die Wände sind jährlich mindestens einmal frisch anzustreichen, zu kälken oder gründlich abzuwaschen.

Bei der Neuanlage oder Erweiterung einer Trockenschleiferei ist die Herstellung von Fussböden aus Lehm verboten.

§ 3. Die Fussböden und die nicht verdeckten, dem Staub ausgesetzten Triebwerke und Geräthschaften sind wöchentlich wenigstens einmal gründlich von Staub zu reinigen, dabei die Fussböden feucht aufzuwischen.

Die Schleifer haben ihre Arbeitsplätze jeden Abend staubfrei herzurichten.

§ 4. Die zum Trockenschleifen dienenden Steine und zum Bürsten und Trockengrobpliessten dienenden Scheiben, sowie diejenigen Polirscheiben und Vorrichtungen, an denen mit Wiener Kalk oder ähnlichen Staub verursachenden Polirmitteln gearbeitet wird, sind mit einer Staubabsaugevorrichtung zu versehen, welche den vom Regierungspräsidenten erlassenen Vorschriften entspricht.

§ 5. Die Umhüllungskasten und die Rohre der Absaugevorrichtung müssen in allen Theilen sorgfältig gedichtet sein. Scharfe Richtungs- und Querschnittsveränderungen in der Rohrleitung sind zu vermeiden.

Der Umhüllungskasten darf nur soweit offen sein, wie es die Arbeit unbedingt erfordert. Die Rohrleitung ist so einzurichten, dass sie ohne Schwierigkeit gereinigt werden kann.

§ 6. Bei der Neuanlage oder Erweiterung einer Schleiferei ist die Absaugerohrleitung unter oder in den Fussboden zu legen. Die Hauptsaugerohre müssen derart gelagert werden, dass sie ein gleichmässiges Gefälle nach dem Luftsauger (Ventilator, Exhaustor) haben.

§ 7. Es ist dafür Sorge zu tragen, dass die Absaugevorrichtungen den vorstehenden Bestimmungen entsprechend während der Arbeit stets in Betrieb gesetzt und in ordnungsmässigem Zustande erhalten werden.

§ 8. Das Abdrehen der Steine darf vor Schluss der Tagesarbeitszeit nur vorgenommen werden, wenn es entweder unter Zuführung von Wasser ohne Stauberzeugung geschieht, oder wenn ein Kasten vorhanden ist, in welchen der Stein, abgesehen von der Arbeitsstelle des Abdrehmeissels, völlig eingeschlossen, und welcher an eine kräftig wirkende Absaugevorrichtung derart angeschlossen wird, dass kein Staub in den Arbeitsraum gelangen kann.

Auf das tägliche Schärfen der Steine findet diese Vorschrift keine Anwendung.

§ 9. Der Schleifstaub muss ausserhalb der Arbeitsräume zweckentsprechend aufgefangen oder derart in's Freie geleitet werden, dass er nicht wieder in einen Arbeitsraum gelangen kann. Auch muss eine Belästigung der Nachbarschaft durch Staub und unnöthiges Geräusch des Luftsaugens ausgeschlossen sein.

§ 10. Sämmtliche zum Schleifen der Messer, der Scheeren und der Sägen, zum Nassschleifen der Schwerter, zum Trockenschleifen der Zangen und Beitel dienenden Steine, sowie sämmtliche Schmirgelsteine müssen, sofern es nach der Art der zu verrichtenden Arbeit möglich ist, mit stets in gutem Anstrich erhaltenen Schutzböcken versehen sein, welche je nach dem fortschreitenden Verschleiss der Steine verstellbar, genügend stark und durchaus sicher verankert oder befestigt sind, so dass bei einem Zerspringen der Steine ein Fortfliegen der Sprungstücke verhindert wird. Für den Fall, dass die Neubeschaffung der Schutzböcke in einer bereits bestehenden Schleiferei mit erheblichen Kosten verbunden ist, kann die Polizeibehörde auf Antrag für die Anbringung der Schutzböcke eine Frist bis spätestens zum 1. Januar 1901 gewähren.

Der Regierungspräsident kann Ausnahmen, auch abgesehen von letzterem Falle und über die gedachte Frist hinaus zulassen. Ausnahmen dürfen jedoch nicht zugelassen werden, wenn es sich um Steine handelt, welche nach den Unfallverhütungsvorschriften der Berufsgenossenschaft schon jetzt mit Schutzböcken versehen sein müssen.

§ 11. Die Krafterzeuger, mit Ausnahme der Wasserräder, müssen mit sicher wirkenden Regulatoren versehen sein, welche ein Durchgehen des Krafterzeugers verhindern.

§ 12. Der Genuss von Branntwein in den Arbeitsräumen und deren Vorräumen während der regelmässigen Arbeitszeit ist verboten.

Betrunkene dürfen sich in den genannten Räumen nicht aufhalten.

Düsseldorf, 30. Juni 1898.

Der Regierungspräsident.
Frhr. v. Rheinbaben.



Ausführungsbestimmungen (Amtsbl. 1898, Stück 35, S. 291).

Auf Grund des § 4 der Polizeiverordnung betreffend die Einrichtung und den Betrieb der Schleifereien vom 30. Juni 1898 (Amtsbl. S. 250, 251) werden hinsichtlich der Beschaffenheit der Staubabsaugevorrichtungen folgende Vorschriften erlassen:

1. In den Absaugerohren der Staubabsaugevorrichtungen müssen mindestens folgende Depressionen herrschen:

bis zu 60 mm	. . .	40 mm
von 60 bis 70 „	. . .	35 „
„ 70 „ 80 „	. . .	30 „
„ 80 „ 90 „	. . .	25 „
„ 90 „ 100 „	. . .	20 „
„ 100 „ 110 „	. . .	15 „
„ 110 „ 120 „	. . .	10 „
mehr als 120 „	. . .	8 „

2. Je nach der Einrichtung und Wirkungsweise der Staubabsaugevorrichtungen kann durch die Polizeibehörde auf Grund eines besonderen Gutachtens der Gewerbeaufsichtsbeamten eine höhere Depression, jedoch nur mit folgenden Höchstwerthen gefordert werden:

Bei einer Lichtweite der Absaugerohre

bis zu 60 mm	. . .	60 mm
von 60 bis 70 „	. . .	55 „
„ 70 „ 80 „	. . .	50 „
„ 80 „ 90 „	. . .	45 „
„ 90 „ 100 „	. . .	40 „
„ 100 „ 110 „	. . .	35 „
„ 110 „ 120 „	. .	30 „
mehr als 120 „	. . .	10 „

3. Die Depressionen in den Absaugerohren der Absaugevorrichtungen an Schwertsteinen müssen stets den unter Nr. 2 angeführten Werthen entsprechen.

4. Bei der Bestimmung der Depression ist der Werth massgebend, welcher sich ergiebt, wenn in der Mitte des Absaugsrohres mindestens 100 mm von seiner Mündung in freiem Luftstrom gemessen wird.

Ausser dieser Polizeiverordnung wurden folgende „Gesundheitliche Rathschläge für Schleifer (Ausmacher, Polirer) im Stadt- und Landkreis Solingen“ ausgearbeitet, und von den Behörden den Schleifern zur Beachtung empfohlen.

„Der Beruf des Schleifers (Ausmachers und Polirers) gilt mit Recht für besonders gesundheitsschädlich. Die durchschnittliche Lebensdauer der Schleifer ist wesentlich kürzer als die anderer Bevölkerungsclassen. Es kann daher den Schleifern, sowie den Eltern, welche für ihre Kinder einen Beruf zu wählen haben, nur dringend empfohlen werden, zur Vermeidung der



Gesundheitsschädigungen und ihrer Folgen nachstehende Rathschläge sorgfältig zu beachten:

I. Am ersten erkranken natürlich die Schleifer, die schon als Kinder wenig widerstandsfähig gewesen sind. Es ist daher Pflicht der Eltern und der Schleifermeister, darauf zu sehen, dass nur gesunde, kräftige Knaben das Schleifen lernen.

Schwächliche, „kränkelnde" Knaben sind auszuschliessen, insbesondere solche, die aus kranken Familien stammen, die selbst schon Erkrankungen der Lungen durchgemacht, die starke Drüsenschwellungen, Nasenerkrankungen und Hautausschläge haben oder zu Husten und Rheumatismus neigen.

Wünschenswerth wäre es, wenn die Eltern Knaben, die Schleifer werden wollen, vor Eintritt in die Lehre ärztlich untersuchen liessen, wenigstens dann, wenn Zweifel über die Tauglichkeit bestehen.

II. Wie erhält sich nun der Schleifer seinen Körper gesund?

1. Der Hauptfeind des Schleifers ist der Staub, der bei der Arbeit erzeugt wird. Ueber Absaugung des Staubes, Reinigung der Schleifstellen u. s. w. giebt es polizeiliche Verordnungen. Es kann den Schleifern nicht dringend genug an's Herz gelegt werden, diese Vorschriften im Interesse der eigenen Gesundheit sehr ernst zu nehmen.

Ausserdem soll der Schleifer aber auch noch auf folgende Punkte achten:

2. Während der Arbeit soll er stets durch die Nase atmen; in der Nase wird die Luft filtrirt und erwärmt. Atmet man durch den Mund, so kommt die nicht von Staub gereinigte Luft direct in den Hals und in die Luftröhren und erzeugt dort Reizzustände, die auf die Dauer zu Erkrankungen der Luftwege führen müssen. (Schleiferkrankheit u. s. w.)

3. Eine möglichst gerade Körperhaltung bei der Arbeit ist anzustreben, weil nur bei dieser Haltung die Lungen wirklich ausgiebig atmen und sich in allen Theilen genügend ausdehnen können. Wenn bei langer Arbeit der Rücken lahm wird, so muss man sich zeitweise strecken.

Um die Angewöhnung an krummes Sitzen zu verhüten, thun die Meister gut, von vornherein bei den Lehrlingen auf gutes Sitzen bei der Arbeit zu achten.

4. Durchnässungen durch Schleifwasser können auf die Dauer leicht zu Erkältungen (Katarrhen und Rheumatismen) führen und müssen deswegen durch geeignete Kleidung, Schurz u. s. w. verhütet werden.

5. In der Frühstücks- und Vesperpause thut der Schleifer gut, den Arbeitsraum zu verlassen und wenn möglich in einem staub- und zugfreien Raum oder im Freien seine Mahlzeit einzunehmen. Während der Pausen sind die Schleifräume durch Oeffnen der Fenster gründlich zu lüften.

Die Mittagsmahlzeit wird zweckmässig zu Hause eingenommen, weil sie auf diese Weise zu einem kurzen Spaziergang zwingt.

Bei jedem Verlassen des Arbeitsraumes muss natürlich zur Verhütung von Erkältungen der Rock angezogen werden.

6. Die Temperatur in den Schleifräumen soll möglichst gleichmässig und nicht zu warm sein (14° R.). Es empfiehlt sich, falls die Luft in den Schleifräumen zu trocken wird, in ihnen Wasser verdunsten zu lassen.



7. Ausserdem ist möglichst dafür Sorge zu tragen, dass der Körper gegen die erwähnten Schädlichkeiten gestählt wird: Solides Leben, besonders Mässigkeit im Genuss von alkoholischen Getränken, Reinhalten des Körpers (Bad oder Abwaschungen), Lüften des Wohn- und besonders des Schlafzimmers, Benutzen jeglicher Gelegenheit zum Aufenthalt im Freien (Sonntagsspaziergänge) sind die hierfür geeigneten Mittel.

Stellen sich trotz aller Vorsicht Erscheinungen ein, die auf eingetretene oder bevorstehende Erkrankung deuten, so ist sofort ärztliche Hülfe in Anspruch zu nehmen.

Handelt es sich um Brusterkrankungen, so wird auf die besonders herausgegebenen „Rathschläge für Lungenkranke" Bezug genommen. Ihre Beschaffenheit ist den Krankencassen empfohlen worden."

Endlich wurde für nöthig befunden, zur Feststellung der gegenwärtigen Gesundheitsverhältnisse und zur näheren Ergründung der Schleiferkrankheiten Untersuchungen an einer möglichst grossen Zahl von Schleifern vorzunehmen. Dieser Aufgabe haben wir uns vom Mai 1898 bis zum Januar 1899 unterzogen.

Wir unterlassen nicht, an dieser Stelle zu bemerken, dass Hr. Landrath Dönhoff diese Untersuchungen in jeder Weise gefördert und unterstützt hat. So wurde uns zu dem Schreibwerk bei den Untersuchungen und zur Eintragung der Ergebnisse in die Listen ein hierzu vorzüglich geschickter Beamter des Landrathsamtes zur Seite gegeben.

Die Untersuchungen haben wir in den Schleifereien selbst nach Anleitung des folgenden Fragebogens ausgeführt. (Für jeden Schleifer war ein besonderer Fragebogen auszufüllen.)

1. Name des Schleifers: . . . . . .
2. Alter: . . . . . .
3. Stand: . . . . . . (Meister, Geselle, Lehrling.)
4. Eltern und Geschwister: . . . . . .
   Vater: L (lebt), † (todt), B (brustkrank); Schleifer?
   Mutter: L . . . . . ., † . . . . . ., B . . . . . .
   Geschwister: L (. . .),* † (. . .),* B (. . .)* [* Zahl].
5. Seit wann Schleifer? Ob mit Untersuchung, und wie lange?
6. Soldat gewesen? (Reclamirt?)
7. Verheirathet?
8. Arbeitsobject? (Schwert-, Scheeren-, Messer-, Gabelschleifer, Ausmacher, Polirer?)
9. Arbeitsart: (Trocken? Nass?)

16*



10. Subjective Beschwerden von Seiten:
    a. der Nase: Nasenverlegung? Schnupfen? Trockenheit? Nasenbluten?
    b. des Halses: Verschleimung? Heiserkeit? Trockenheit?
    c. der Brust: Schmerzen? Athemnoth? Blutungen? (und wann?) Auswurf? (seit wann?)

11. Objective Untersuchung.
    a. der Nase:
        1. Naseneingang: Ausschlag?
        2. Nasenscheidewand: Geschwüre? Ausbiegungen?
        3. Nasenmuscheln und Schleimhäute: Hypertrophisch? Atrophisch? Polypen? Papillome?
    b. des Rachens:
        Hyperplasie der Rachentonsille?
        „ „ Gaumentonsillen?
        Chronischer Katarrh?
    c. des Kehlkopfes:
        Chronischer Katarrh I[1]
        „ „ II
        „ „ III
    d. der Lunge:
        Katarrh I[1] rechts? links? oben? unten?
        „ II „ „ „ „
        „ III „ „ „ „
        Emphysem?
        Pleuritis? rechts? links?
    e. des Herzens: grösser? Klappenstörungen?
    f. der Leber: grösser? kleiner?
    g. Rheumatismus?

Die Fragen 1 bis 9 wurden von dem Secretär, die Fragen 10 und 11 von uns gestellt. Wie aus dem Fragebogen ersichtlich, konnte die Notirung der Antworten und der Untersuchungsergebnisse einfach durch Unterstreichen geschehen. Zweck und Wichtigkeit der einzelnen Fragen werden aus der Besprechung der Ergebnisse hervorgehen.

Von den 1250 von uns untersuchten Schleifern, etwa 30 Procent der Gesammtzahl,[2] standen im Alter von Jahren:

---

[1] Wir verstehen unter:

Katarrh I: chronische Reizzustände.
„ II: Infiltrationen und Indurationen.
„ III: Zerstörungen.

[2] Wir untersuchten die Schleifer, wie sie sich uns boten. Dass unsere Ergebnisse den Verhältnissen der Wirklichkeit entsprechen, werden wir später zu erweisen Gelegenheit nehmen.



Tabelle VII.

14—20	21—25	26—30	31—35	36—40	41—45	46—50	51—55	56—60	61—65	Sa.
353	282	213	167	91	59	32	23	19	11	1250 [1]
28·3 %	22·6 %	17·0 %	13·4 %	7·3 %	4·7 %	2·6 %	1·8 %	1·5 %	0·9 %	100% [2]

Aus der Nebeneinanderstellung der folgenden Tabellen geht deutlich hervor, dass die Zahl der Schleifer viel rapider mit dem Alter abnimmt, als die Zahl der Männer in der Gesammtbevölkerung. Abgesehen von der verhältnissmässig geringen Zahl der Fälle von Uebergehen in einen anderen Beruf, ist diese schnelle Abnahme der bereits besprochenen grösseren Mortalität der Schleifer zuzuschreiben.

Die Vertheilung der Männer über 20 Jahre auf die Lebensalter ist:

Tabelle VIII.

Alter in Jahren	Nach der Volkszählung von 1895 (14) im preuss. Staat:		im Reg.-Bez. Düsseldorf:		Bei den 897 von uns untersuchten Schleifern über 20 Jahre	
	Zahl	%	Zahl	%	Zahl	%
20—25	1 340 604	15·95	93 913	16·35	282	31·44
26—30	1 206 193	14·36	94 150	16·4	213	23·7
31—35	1 085 502	12·92	81 101	14·1	167	18·6
36—40	969 204	11.54	70 161	12·2	91	10·1
41—45	828 587	9·87	57 247	9·97	59	5·7
46—50	716 296	8·53	47 885	8·34	32	3·6
51—55	630 211	7·50	40 115	7·0	23	2·6
56—60	521 951	6·21	31 780	5·53	19	2·1
61—65	406 428	4·84	22 716	3·96	11	1·2
über 65	693 634	8·26	35 149	6·12	0	0
Summa:	8 398 610	99·98	574 257	99·97	897	99·0

[1] Oldendorff (10) giebt folgende Procentsätze von den am 1. XII. 1875 im oberen Kreise Solingen gezählten 1846 Schleifern. In Klammer sind unsere Ergebnisse derselben Altersstufe beigefügt.

14—20	21—30	31—40	41—50	über 50
25·9 %	31·6 %	28·5 %	9·6 %	4·3 %
(28·3 „)	(39·6 „)	(20·7 „)	(7·3 „)	(4·2 „)

[2] In den Kreisen Siegen, Iserlohn und Hagen (*Jahresberichte der Gewerberäthe* (16), 1897, Arnsberg) standen die 2233 Schleifer in folgendem Alter. (Unsere Procentsätze sind, nach derselben Altersstufe berechnet, in Klammern beigefügt.)

14—20	21—30	31—35	36—40	über 40	Summa:
574	885	330	183	261	2233
25·7 %	39·6 %	14·8 %	8·2 %	11·7 %	100 %
(28·3 „)	(39·6 „)	(13·4 „)	(7·3 „)	(11·5 „)	(100·1 %)



Nach dem Stande vertheilten sich die Untersuchten folgendermassen:

Tabelle IX.

Alter in Jahren	14-20	21-25	26-30	31-35	36-40	41-45	46-50	51-55	56-60	61-65	Sa. (u. %)
Meister	54	192	166	149	83	49	32	22	19	10	776 = 62·08%
Gesellen	76	88	46	18	8	10	—	1	—	1	248 = 19·84%
Lehrl.	223	2	1	—	—	—	—	—	—	—	226 = 18·08%
											1250 = 100·00%

Das procentuelle Ueberwiegen der Gesellen in unserer Tabelle im Vergleich zu der Gesellenzahl, wie sie die Erhebungen der Schleifervereine (s. o.) ergaben, erklärt sich wohl aus dem Umstande, dass letztere die Lohnarbeiter, die sich (etwa 100 an Zahl) uns als Gesellen bezeichneten, nicht berücksichtigt haben.

Aus dieser Tabelle ist ferner ersichtlich, dass sich im Schleifergewerbe Lehrlinge über 20 Jahre kaum finden. Wir schliessen daraus, dass die Schleifer ihren Beruf gleich nach Entlassung aus der Schule ergreifen, und finden eine Bestätigung dafür in der Beantwortung der Frage (sub 5): „Seit wann Schleifer?“ Fast alle Schleifer waren mit dem 14. Lebensjahre in die Lehre getreten.

Nur 29 von den 1250 Untersuchten hatten länger als ein Vierteljahr ihre Arbeit als Schleifer wegen Krankheit oder aus anderen Ursachen (ausgenommen die Militärdienstzeit) unterbrochen. Dies ist ein Beweis dafür, dass die Schleifer, sofern sie nicht bei eingetretener Krankheit in einen anderen Beruf übergehen, meist bis zur vollständigen Invalidität ununterbrochen arbeiten.

Von den heirathsfähigen 897 über 20 Jahre alten Schleifern waren verheirathet 605 = 67·2 Procent.

Unter den 495 im Alter von 21 bis 30 Jahren stehenden waren bereits 236 = 48 Procent verheirathet.

Nach dem Ergebniss der Volkszählung von 1895 (14) waren im Regierungsbezirk Düsseldorf von sämmtlichen Männern im Alter von 21 bis 30 Jahren nur 27·9 Procent verheirathet. Man kann aus dem Vergleich dieser Procentsätze ersehen, dass die Schleifer früh heirathen. Dies dürfte wohl in den Lohnverhältnissen begründet sein. Weitere Schlüsse aus dieser Thatsache können wir, soweit sie die Gesundheitsverhältnisse der Schleifer angeht, nicht ziehen.



Von den 1250 Untersuchten schliffen:

trocken 351,
trocken und nass . 899.

Nach dem Alter vertheilen sich die Trocken- und die Nassschleifer folgendermassen. Es schliffen im

Tabelle X.

Alter von Jahren:	14-20	21-25	26-30	31-35	36-40	41-45	46-50	51-55	56-60	61-65
a) trocken:	121	74	55	42	17	17	9	8	3	5
= %	34·2	21·8	15·7	12·0	4·8	4·8	2·6	2·3	0·9	1·4
b) trocken und nass:	232	208	158	125	74	42	23	15	16	6
= %	25·9	23·1	17·5	13·9	8·2	4·7	2·6	1·7	1·8	0·7

Der gesundheitsschädigenden Wirkung des Staubes sind naturgemäss die Schleifer am meisten ausgesetzt, die nur trocken schleifen. Sämmtliche Autoren, die sich mit den Erkrankungen der Schleifer beschäftigt haben, heben denn auch hervor, dass die Trockenschleifer früher erkranken als die Schleifer, die vorwiegend am nassen Stein arbeiten. Dieser Ansicht können wir uns nur anschliessen, zumal sie thatsächlich durch obenstehende Tabelle gestützt wird. Es kann aus dieser Tabelle geschlossen werden, dass in den Altersstufen von 20 bis 40 Jahren die Mortalität der Trockenschleifer eine grössere ist, als die der Nassschleifer.

Nach dem Arbeitsobject vertheilten sich die Schleifer wie folgt. Es waren:

Tabelle XI.

	Nach unseren Untersuchungen	Nach der Statistik der Schleifervereine
Schwertschleifer . . .	16 = 1·3 %	1·2 %
Scheerenschleifer . . .	254 = 20·3 „	28·5 „
Messerschleifer	686 = 54·9 „	51·9 „
Ausmacher	181 = 14·5 „	13·0 „ (Ausmacher und Polierer zusammen)
Polierer	37 = 2·9 „	
Gabelschleifer	76 = 6·1 „	5·3 „



Aus dieser Nebeneinanderstellung geht hervor, dass die Vertheilung der Schleifer auf die Berufsarten, wie wir sie fanden, der Vertheilung in der Gesammtheit entspricht.

Auf die Altersstufen vertheilten sich diese Berufsarten:

Tabelle XII.

Alter, Jahre	Schwert-schleifer	Scheeren-schleifer	Messer-schleifer	Ausmacher	Polirer	Gabel-schleifer
14—20	3=18·7 %	72=28·3 %	202=29·6 %	43=23·7 %	6=16·2 %	26=34·2 %
21—25	2=12·5 „	49=19·3 „	145=22·6 „	37=20·4 „	9=24·3 „	30=39·5 „
26—30	1= 6·3 „	52=20·5 „	114=16·6 „	34=18·9 „	6=16·2 „	6= 8·0 „
31—35	4=25·0 „	30=11·8 „	93=13·8 „	24=13·2 „	8=21·6 „	8=10·5 „
36—40	2=12·5 „	20= 7·8 „	53= 7·7 „	11= 6·1 „	2= 5·4 „	4= 5·2 „
41—45	3=18·7 „	10= 3·9 „	31= 4·5 „	11= 6·1 „	2= 5·4 „	2= 2·6 „
46—50	1= 6·3 „	7= 2·8 „	15= 2·2 „	9= 4·9 „	0= 0 „	0= 0 „
51—55	0= 0 „	3= 1·2 „	13= 1·9 „	6= 3·3 „	1= 2·7 „	0= 0 „
56—60	0= 0 „	9= 3·6 „	7= 1·0 „	2= 1·1 „	1= 2·7 „	0= 0 „
61—65	0= 0 „	2= 0·8 „	3= 0·4 „	4= 2·2 „	2= 5·4 „	0= 0 „
Summa:	16=100 %	254=100 %	686=100 %	181=100 %	37=100 %	76=100 %

In dieser Tabelle kommt die Gefährlichkeit der einzelnen Berufe in charakteristischer Weise zum Ausdruck. Unter den Gabelschleifern stand keiner in einem höheren Alter als 45 Jahre, unter den Schwertschleifern war keiner über 50 Jahre alt.

Tabelle XIII.

Ueber 45 Jahre alt waren unter den

Messerschleifern	5·5	Procent;
Schwertschleifern	8·4	„
Polirern	10·8	„
Ausmachern	11·5	„

Zur Erklärung dieser Unterschiede muss hier in Ergänzung früherer Ausführungen erwähnt werden:

Die Gabelschleifer pliessten grösstentheils trocken. Da nun für die Arbeit an der trockenen Pliesstscheibe durch die oben erwähnte Polizeiverordnung von 1875 die Anbringung von Staubabsaugevorrichtungen nicht zur Pflicht gemacht war, sind sie also einer sehr grossen Staubentwickelung ausgesetzt.

Auch für die Schwertschleifer war keine Ventilation vorgeschrieben, daher auch bei ihnen die frühe Sterblichkeit.



Wesentlich günstiger stehen natürlich die grösstentheils nass arbeitenden Scheeren- und Messerschleifer.

Als einen Grund für die relativ grössere Zahl der Scheerenschleifer in den höheren Lebensaltern im Vergleich zu den Messerschleifern kann man wohl den Umstand anführen, dass letztere erheblich mehr an der staubigen Grobpliesstscheibe sitzen müssen.

Auffällig könnte auf den ersten Blick der günstige Stand der Ausmacher und Polirer erscheinen: Man muss aber bedenken, dass die Ausmacher einen grossen Theil ihrer Arbeit an trockenen Steinen und die Polirer an der Bürstenscheibe besorgen, also an Apparaten arbeiten, für welche bereits durch die Polizeiverordnung von 1875 Ventilation vorgeschrieben war.

Ein ebenso günstiges Resultat für die Ausmacher ergaben auch die Erhebungen des Hrn. Landrath Dönhoff:

Von 1000 im Kreise Solingen Lebenden starben in den Jahren 1885 bis 1895 durchschnittlich:

Schleifer überhaupt . . .	20·6,
Ausmacher	16·7.

Aus obigen Ausführungen dürfte zweifellos hervorgehen, wie wichtig geeignete Ventilationseinrichtungen für Gesundheit und Leben der Schleifer sind.

Nach dieser allgemeinen Uebersicht kommen wir jetzt zur Besprechung der Gesundheitsstörungen der Schleifer:

Wir sehen dabei von den Unfällen (Verletzungen durch Zerspringen der Steine, Läsionen des Auges u. s. w.) völlig ab und wollen die Wirkung der hauptsächlichsten Gesundheitsschädlichkeiten an der Hand unseres Fragebogens näher erörtern.

Diese Schädlichkeiten sind: 1. der Staub; 2. die Körperhaltung des Schleifers während der Arbeit; 3. der Alkoholmissbrauch; 4. die Erkältungen.

Tabelle XIV.

Wir fanden unter den 1250 von uns Untersuchten:

1. Vollständig Gesunde . .	200 =	16·0	Procent,
2. Subjectiv Kranke . . .	71 =	5·7	„
3. Objectiv Kranke . . .	979 =	78·3	„

Diese drei Kategorien vertheilen sich auf die Altersstufen:



Tabelle XV.

Alter:	14-20	21-25	26-30	31-35	36-40	41-45	46-50	51-55	56-60	61-65
1) Gesunde:										
Zahl	98	60	20	14	5	3	0	0	0	0
Procentsatz d. Altersstufe	27·8	21·3	9·4	8·4	5·5	5·1	0	0	0	0
2) Subjectiv Kranke:										
Zahl	24	14	13	7	11	0	0	2	0	0
Procentsatz d. Altersstufe	6·8	5·0	6·1	4·2	12·1	0	0	8·7	0	0
3) Objektiv Kranke:										
Zahl	231	208	180	146	75	56	32	21	19	11
Procentsatz d. Altersstufe	65·4	73·7	84·5	87·4	82·2	94·9	100	91·3	100	100

Es fand sich somit kein vollständig Gesunder mehr in der Altersstufe über 45 Jahre. Auch Schleifer, die über Beschwerden klagten, ohne nachweisbar krank zu sein („Subjectiv Kranke“), haben wir, 2 Einzelfälle ausgenommen, nicht mehr über 40 Jahre alt gefunden.

Die Nr. X („Subjective Beschwerden“) haben wir übrigens unserem Fragebogen aus zweierlei Gründen eingefügt:

Einmal wollten wir aus den Klagen der zu Untersuchenden Hinweise auf etwaige Erkrankungen gewinnen; dann aber glaubten wir aus dem Vorhandensein von subjectiven Beschwerden bei fehlendem objectiven Befunde auf ein beginnendes Kränkeln schliessen zu können.

Objective Untersuchungen.

In der uns vorliegenden Litteratur über Staubinhalationskrankheiten finden wir kaum Andeutungen[1] über die grosse Bedeutung, die der Nase als der Eingangspforte der Athmungsluft zukommt.

Bei normaler Athmung soll die Luft in der Nase erwärmt und filtrirt werden. Ist die Nase aus irgend welchem Grunde verlegt und sind die Betreffenden dadurch gezwungen, durch den Mund zu athmen, so dringt die Luft unfiltrirt und unerwärmt in die tieferen Respirationsorgane. Dadurch sind letztere allen in der Aussenluft liegenden Schädlichkeiten in erhöhtem Maasse ausgesetzt.

Die gewöhnlichen Ursachen der Nasenverlegung sind: Ausschläge am Naseneingang, Ausbiegungen der Nasenscheidewand, Hypertrophie der Nasenschleimhaut, Polypen, Papillome u. s. w.

Hierzu kommt bei den Schleifern nun aber noch Folgendes:

Selbst die gesundeste Nase hat eine Grenze ihrer Filterkraft und versagt schliesslich den auf sie eindringenden Staubmassen gegenüber. Der Staub lagert sich in der Nase ab und verlegt sie mechanisch.

[1] Sommerfeld (17), S. 22.



Dann wirkt der massenhafte Staub aber auch auf die Dauer krankmachend auf die Nasenschleimhaut selber. Die erste Wirkung des Staubes auf die Nase ist eine irritirende. Bei jugendlichen Arbeitern zeigt sich diese Reizwirkung in Form von Ausschlägen am Naseneingange, Röthung und Schwellung der Nasenschleimhaut, Erosionen und kleinen Ulcera an der Nasenscheidewand, deren Bildung dadurch begünstigt wird, dass die Betreffenden die Staubmassen mit dem Finger aus der Nase zu entfernen geneigt sind.

Nach längerer Einwirkung des Staubes wird die Nasenschleimhaut oft atrophisch. In diesem Stadium klagten die Leute über Trockenheit, Verlegung der Nase und Herabsetzung des Riechvermögens.

Dieser atrophische Process, der übrigens mit der Rhinitis atrophicans foetida (Ozaena) nicht identificirt werden darf, hat zur Folge, dass die Nase ihre normalen Functionen verliert und dem Staub ebenso Zutritt zu dem übrigen Respirationstractus giebt, wie dieses bei Nasenverlegung und der dadurch bedingten Mundathmung der Fall ist.

Unter den 353 von uns untersuchten Schleifern im Alter von 14 bis 20 Jahren hatten 45 = 12·7 Procent die oben erwähnten Reizzustände in der Nase.

In der specialistischen Praxis hatte Dr. Röpke im letzten Jahre unter 122 in demselben Alter stehenden Jünglingen 11 Erkrankungen dieser Art = 8·2 Procent.

Obgleich diese jungen Menschen in überwiegender Zahl in der hiesigen Industrie thätig waren, also auch viel in staubiger Atmosphäre sich aufhielten, ist der Procentsatz der erwähnten Erkrankungen im Vergleich zu den Schleifern doch ein erheblich geringerer.

Atrophie der Nase hatten 292 = 23·4 Procent aller Untersuchten. Sie vertheilten sich auf die Lebensalter, wie folgt:

Tabelle XVI.

Vom	14.	bis	20.	Jahre	67	von	353 = 18·9	Procent,
„	21.	„	25.	„	54	„	282 = 19·2	„
„	26.	„	30.	„	51	„	213 = 23·9	„
„	31.	„	35.	„	41	„	167 = 24·5	„
„	36.	„	40.	„	27	„	91 = 29·6	„
„	41.	„	45.	„	24	„	59 = 40·6	„
„	46.	„	50.	„	9	„	32 = 28·1	„
„	51.	„	55.	„	7	„	23 = 30·4	„
„	56.	„	60.	„	8	„	19 = 42·1	„
„	61.	„	65.	„	4	„	11 = 36·3	„



Wie man sieht, wird schon in dem Alter von 26 bis 30 Jahren der Durchschnittsprocentsatz überschritten.

Dass diese Atrophie bei den Schleifern eine Berufskrankheit ist, dürfte aus folgenden Vergleichszahlen mit Sicherheit hervorgehen: Unter 458 in dem letzten Jahre bei Dr. Röpke in Behandlung getretenen männlichen Ohren-, Nasen- und Halskranken über 14 Jahre (inclusive Schleifer) waren nur 56 = 12·2 Procent mit einer Atrophie der Nase behaftet.

Tabelle XVII.

Ausbiegung der Nasenscheidewand bestand bei den

Untersuchten	in	184 Fällen	=	14·7 Procent,
Polypen	„	37 „	=	3·0 „
Papillome	„	32 „	=	2·5 „

Diese pathologischen Befunde, die wir als Ursachen für die Nasenverlegung oben bereits erwähnten, dürften als Folge der Berufsthätigkeit wohl gar nicht (Ausbiegungen der Nasenscheidewand) oder nur nebensächlich (Polypen, Papillome) in Betracht kommen.

Dasselbe gilt von der Hyperplasie der Rachentonsille, die ebenfalls die Nase verlegen kann.

Wir fanden diese Erkrankung in 53 Fällen, also 4·2 Procent, davon standen im Alter von 14 bis 20 Jahren 37 = 10·4 Procent dieser Altersstufe.

Hypertrophie der Gaumentonsillen hatten 75 = 6 Procent der Untersuchten, im Alter von 14 bis 20 Jahren waren davon 38 = 10·7 Procent der Altersstufe.

Diese Hyperplasieen des lymphatischen Ringes, die meistens auf scrophulöser Basis beruhen, werden uns noch bei Besprechung der Heredität beschäftigen.

Ausgesprochene chronische Pharyngitis hatten 403 = 32·2 Procent. Ausser dem Rachenkatarrh, der durch Missbrauch von Tabak und Alkohol und andere Ursachen entsteht und sich meistens durch Röthung und Schwellung der Schleimhäute documentirt, fanden wir in einer grossen Zahl von Fällen dasselbe Bild, wie es die Schleimhaut der Nase bot. Am Rachendach und an der hinteren Rachenwand lagen theils frische, theils zu Borken eingetrocknete Staubmassen; die darunter gelegene Schleimhaut war auch hier vielfach atrophisch.

Zu erwähnen ist hier noch, dass die Schleifer selten, auch wenn die ganzen Rachenschleimhäute mit Borken bedeckt waren, über irgend welche Beschwerden von Seiten des Rachens klagten.



Bei den Affectionen des Kehlkopfes haben wir, wie wir schon bei Besprechung des Fragebogens erwähnten, drei Stadien unterschieden.

Die Gesammtzahl der an Kehlkopfkatarrhen leidenden Schleifer war 602 = 48·2 Procent der Untersuchten.

Tabelle XVIII.

Katarrh I	hatten	544 = 43·5	Procent,
„ II	„	53 = 4·2	„
„ III	„	5 = 0·4	„

Die Fälle vertheilten sich auf die Lebensalter:

Tabelle XIX.

Alter:	14–20	21–25	26–30	31–35	36–40	41–45	46–50	51–55	56–60	61–65
Katarrh I.										
Zahl	108	113	101	82	49	38	22	12	10	9
Procentsatz d. Altersstufe	30·5	40·2	47·4	49·1	54·9	64·4	68·7	52·2	57·8	81·8
Katarrh II.										
Zahl	5	8	14	4	10	1	4	3	3	1
Procentsatz d. Altersstufe	1·4	2·8	6·5	2·4	10·9	1·7	12·5	13·0	15·8	9·1
Katarrh III.										
Zahl	0	0	2	0	1	1	0	1	0	0

Da sich die Erkrankungen des Kehlkopfes sehr schwer von den Lungenerkrankungen trennen lassen, werden wir sie ausführlicher bei der Lunge besprechen. Hier sei nur das schon gesagt, dass bei der laryngoskopischen Untersuchung auch auf den Stimmbändern und den Schleimhäuten der hinteren Kehlkopfwand und der subglottischen Partieen vielfach Staubmassen gesehen wurden, ohne dass wesentlicher Hustenreiz bestand.

Diese Hypästhesie, wie wir sie auch schon für den Pharynx erwähnt haben, ist auf die dauernde Staubeinwirkung zurückzuführen.

Die für die Schleifer schädlichste Wirkung des Staubes ist die auf die Lungen. Die allgemeine Ansicht, dass die Schleifer vorwiegend an Lungenerkrankungen zu Grunde gehen, wird durch die Mortalitätsstatistik durchaus bestätigt.

Nach den Erhebungen des Hrn. Landrath Dönhoff **starben** in den Jahren 1885 bis 1895 durchschnittlich von 100 über 14 Jahren alten Männern im Kreise Solingen an Lungenschwindsucht:



Tabelle XX.

Alter:	14—20	21—30	31—40	41—50	über 50	überhaupt
I. Schleifer	25·8%	84·4%	75·9%	79·3%	68·7%	72·5%
II. Uebrige männliche Bevölkerung im Kreise Solingen . .	40·0%	69·9%	47·0%	36·0%	25·3%	35·3% [1]

Von den 1250 von uns untersuchten Schleifern waren brustkrank:

Tabelle XXI.

Alter:	14-20	21-30	31-40	41-50	über 50	Zusammen	
Katarrh I.							
rechts	2	6	3	0	2	13	= 2·08% der Gesammtzahl
links	1	3	1	0	1	6	
rechts und links . . .	3	0	1	0	3	7	
Summa	6	9	5	0	6	26	
Procentsatz d. Altersstufe	1·7%	1·8%	1·9%	0	11·3%		
Katarrh II.							
rechts	10	17	9	4	4	44	= 6·64% der Gesammtzahl
links	3	12	7	2	3	27	
rechts und links . . .	4	2	1	2	3	12	
Summa	17	31	17	8	10	83	
Procentsatz d. Altersstufe	4·8%	6·2%	6·6%	8·8%	18·9%		
Katarrh III.							
rechts	0	1	1	1	0	3	= 0·32% der Gesammtzahl
links	0	0	0	0	0	0	
rechts und links . . .	0	0	0	1	0	1	
Summa	0	1	1	2	0	4	
Procentsatz d. Altersstufe	0	0·2%	0·4%	2·2%	0		
Gesammtzahl d. Katarrhe	23	41	23	10	16	113	= 9·04% der Gesammtzahl [2]
und Procentsatz . . .	6·5%	8·2%	8·9%	11·0%	30·2%		

[1] Oldendorff (10), S. 77, fand, dass im Jahre 1875 von 100 Todesfällen bei den über 20 Jahre alten Männern auf Schwindsucht kamen:

Alter:	20—30	31—40	41—50	über 50	überhaupt
I. Schleifer	76·9%	87·0%	91·7%	50·0%	77·4%
II. Männliche Bevölkerung Solingens	81·5 „	54·5 „	56·0 „	32·2 „	46·0 „
III. Im Reg.-Bezirk Düsseldorf . . .	59·9 „	56·6 „	49·8 „	27·7 „	40·1 „
IV. Im Königreich Preussen	43·2 „	39·2 „	33·7 „	17·7 „	25·2 „

[2] Das bedeutende Ueberwiegen der rechtsseitigen Affectionen über die linksseitigen (60 : 33) dürfte hier, wie überhaupt, in der Lage- und Weitedifferenz der Bronchien und in dem Ueberwiegen der Rechtshändigkeit seine genügende Erklärung finden.



Reste von **Pleuritis** hatten 17 = 1·36 Procent der Gesammtzahl, und zwar rechts 10, links 7.

Emphysem hatten:

Tabelle XXII.

Alter:	14–20	21–30	31–40	41–50	über 50	
Zahl	0	1	11	10	18	Zusammen 40 = 3·2 % der Gesammtzahl
Procentsatz d. Altersstufe	0	0·2%	4·2%	11·0%	34·0%	

In Summa waren brustkrank 150 = 12·0 Procent; davon hatten Katarrhe 113 = 9·04 Procent.[1]

In Wirklichkeit wird die Gesammtzahl der Katarrhe erheblich höher zu schätzen sein in Anbetracht der Schwierigkeit, Anfangsstadien, zumal bei Massenuntersuchungen, physikalisch nachzuweisen.

Der Katarrh I (vgl. Fragebogen) ist in seiner mittleren Form gewiss ebenso, wie in dem oberen Respirationstractus, als Reizzustand aufzufassen. Dem in einen stauberfüllten Schleifraum eintretenden Nichtschleifer macht sich die irritirende Wirkung des Staubes als Hustenreiz bemerkbar. Bei längerer Einwirkung des Staubes kommt es zu Anfangs trockenem, später feuchtem Husten mit schleimigem, schleimig-eitrigem, staubigem, selbst blutig tingirtem Auswurf. Die Schleifer gewöhnen sich allmählich an den Staub, d. h. es tritt bei ihnen, wie wir schon bei Besprechung der Erkrankungen des Rachens und des Kehlkopfes gesehen haben, eine Abstumpfung in der Empfindlichkeit im Respirationstractus ein.

So wurden wiederholt nicht nur vereinzelte Staubpartikelchen, sondern beträchtliche Massen geballten Staubes auf den Stimmbändern und der Trachealschleimhaut bis zur Bifurcation gesehen, die den Betreffenden keinerlei Unbequemlichkeiten gemacht hatten. Natürlich wird man gleiche Verhältnisse für die tieferen, der Spiegeluntersuchung nicht zugänglichen Verästelungen der Bronchien annehmen dürfen.

Interessant ist die von uns wiederholt gemachte Beobachtung, dass die Schleifer, die nach mehrwöchentlichem Pausiren an die Arbeit gehen, wieder staubempfindlich geworden waren und dass sie erst allmählich nach mehreren Tagen wieder unbelästigt arbeiten konnten.

Man wird als nächste Folge dieser Hyperästhesie eine Herabsetzung des Tonus in der Bronchialschleimhaut annehmen dürfen. Wir neigen

[1] Die Differenz der aus obigen Tabellen zu ziehenden Gesammtsumme 170 und der wahren Zahl der Lungenkranken 150 erklärt sich aus einer Anzahl von Doppelaffectionen.



zu der Ansicht, dass diese Atonie eine der Hauptursachen für die Entstehung des Schleifer-Emphysems ist. Es liegt uns dabei fern, die von anderen Autoren für die Entstehung des Emphysems angeführten ätiologischen Momente (z. B. die vicariirende Natur desselben) als solche abweisen zu zu wollen. (Vgl. Merkel (7), Arlidge (12) u. A.) Desgleichen wird die Hypästhesie und Atonie des Respirationstractus das Eindringen von Staubtheilen in die tieferen Gewebe befördern.

Wir waren nicht in der Lage, Schleiferlungen anatomisch zu untersuchen. Wie wir aus der uns vorliegenden Litteratur ersehen, ist die wohl allgemein acceptirte Auffassung von der Wirkung des Staubes auf das Lungengewebe folgende:

Der Staub ballt sich in den Alveolen, wo er theils frei, theils in Zellen eingebettet liegt. Diese Ballen bedingen zugleich mit den direct in das peribronchiale und perialveoläre Gewebe sich bohrenden Staubtheilchen Entzündungen bis zu Schwielenbildungen, und der Zerfall dieser mit Staub bis zur völligen Schwärzung gefüllten fibrösen Entzündungsproducte und des von ihnen umschlossenen Gewebes führt endlich zur Zerstörung der Lungen. (Vgl. Seltmann (4), Zenker (5), Merkel (7), Hall (8), Arlidge (12), Sommerfeld (17) u. A.)

Dieses Eindringen und Ansammeln des Staubes in der Tiefe wird durch alle diejenigen Hülfsursachen befördert, die den Zutritt zu tieferen Partieen begünstigen und die das Wiederauswerfen erschweren.

In erster Linie werden die mehr Staub liefernden Arbeiten die Lunge stärker und eher gefährden.

Dies geht auch aus der nachfolgenden Tabelle hervor: Wir fanden unter den Schleifern, die nur trocken arbeiten, 13·7 Proc., und unter denen, die trocken und nass schleifen, nur 11·3 Proc. Lungenkranke.

Von den Lungenkranken standen im folgenden Alter:

Tabelle XXIII.

	I. Trockenschleifer	II. Trocken- und Nassschleifer
14—20	11 von 121 = 9·1 %	13 von 232 = 5·6 %
21—30	15 „ 129 = 11·6 „	32 „ 366 = 8·7 „
31—40	8 „ 59 = 13·6 „	23 „ 199 = 11·5 „
41—50	5 „ 26 = 19·2 „	15 „ 65 = 23·1 „
über 50	9 „ 16 = 56·3 „	19 „ 37 = 51·4 „

Sodann wird die durch Nasenverletzung bedingte Mundathmung oder die Herabsetzung der Filterkraft der Nase ein tieferes Eindringen des Staubes herbeiführen.



Es hatten:

Tabelle XXIV.

	Von den Untersuchten überhaupt	Von den Lungenkranken
a) Nasenverlegung (Ausbiegung d. Septum, Polypen, Papillome)	253 = 20·2 %	50 = 33·3 %
b) Atrophie der Nase	292 = 23·4 „	39 = 26·0 „

Beweisend für die Wichtigkeit der Nasenathmung ist noch folgende Beobachtung von Cornet (19): „Von den Thieren, welche (sc. zerstäubte tuberculöse Sputa) durch den Mund inhalirten, wies die Hälfte tuberculöse Veränderungen auf, von denen mit Naseninhaltation nur $^1/_8$. Ueberhaupt zeigten die Ersteren weit erheblichere Veränderungen als die Letzteren."

Ferner wird die gebückte Haltung, welche die Schleifer bei der Arbeit einnehmen, ihren Thorax comprimiren, die Entfaltung der Lungen bei der Inspiration beschränken und so dem Staube Gelegenheit geben, sich in den nicht entfalteten Partieen festzusetzen.

Endlich werden Erkältungen, soweit sie acute Bronchitiden, Pneumonieen und Pleuritiden im Gefolge haben, die Widerstandsfähigkeit des Gewebes, in welches sie gebettet sind, herabsetzen. Solchen Erkältungen setzen sich die Schleifer besonders häufig aus, weil sie vielfach die Gewohnheit haben, leicht bekleidet von ihrer erhitzenden Thätigkeit weg aus manchmal überheizten Räumen in's Freie zu gehen und sich dem Zuge auszusetzen. Auf die schädigende Wirkung des Alkoholismus, deren Erwähnung hier auch am Platze ist, werden wir später zurückkommen.

Die Symptomatologie des Katarrhs II ist eine äusserst mannigfaltige und von der des Katarrhs III insofern nur künstlich zu trennen, als nur die ausgesprochenen Symptome der Zerstörung dem letzteren zuzuweisen sind. Bei Katarrh II kann man alle nur denkbaren auscultatorischen Phänomene beobachten, diffus und umschrieben, oft in der Oertlichkeit wechselnd, so dass eine genaue Localisirung gewöhnlich nicht möglich ist; stabil bleibt nur die Dämpfung, die gewöhnlich an der Spitze liegt. — Man findet auch in diesem Stadium ein stark eitriges, mehr oder weniger staubgefärbtes Sputum. Nach unseren vielfachen Beobachtungen und zuverlässigen Angaben von erkrankten Schleifern zeigt sich in den vorgeschrittenen Stadien dieser „Schleiferkrankheit" eine Staubfärbung des Sputums noch nach wochen-, monate- und selbst nach jahrelangem Fernbleiben aus der Schleiferei. Es handelt sich hier selbstverständlich nicht um directes Auswerfen von eben inhalirtem Staube, also nicht um einen Act der Selbst-



reinigung der Bronchien, wie wir das beim Katarrh I angedeutet haben, sondern um das Auswerfen zerfallener, staubinfiltrirter Lungenpartieen. Ebenso sind die in diesem Stadium auftretenden grösseren Blutungen („Blutsturz“) auf Zerstörungsvorgänge zurückzuführen und dürfen mit den im Anfangsstadium dem Sputum zuweilen beigemengten Blutstreifen nicht verwechselt werden.

Wir haben zwar bakteriologische Untersuchungen der Sputa nicht gemacht, weil deren einigermassen vollständige Durchführung bei unseren Massenuntersuchungen (gewöhnlich etwa 50 an einem Nachmittag) natürlich ganz und gar unthunlich war. Dennoch haben wir vollen Grund zu der Annahme, die auch von den Autoren vertreten wird, dass Tuberculose nur eine accidentelle Erkrankung der Schleifer ist. Die mit Katarrh III (Zerstörung) behafteten Schleifer sind sicher alle tuberculös. Auch von den mit Katarrh II Behafteten wird ein grosser Procentsatz tuberculös sein, und selbst bis in die Zahl der an Katarrh I Erkrankten wird sich die tuberculöse Infection sicherlich erstrecken. Sie sind sicher dann als tuberculoseverdächtig anzusehen, wenn bei ihnen zugleich Kehlkopferkrankungen tuberculoseverdächtiger Natur festgestellt wurden.

Von den Kehlkopferkrankungen waren ebenfalls sicher tuberculös die mit Katarrh III Bezeichneten, die also Zerstörungsprocesse hatten. Als hochgradig suspect ist auch der grösste Theil der Larynx-Katarrhe II (Infiltration) anzusehen.

Wir fanden unter den 150 Lungenkranken 50 (= $33\,^1/_3$ Proc.) mit Kehlkopfkatarrh II und III behaftet. Daraus können wir wohl den Schluss ziehen, dass ungefähr $33\,^1/_3$ Proc. der lungenkranken Schleifer tuberculös sind. Herr Prof. Finkler schätzt, wie er uns persönlich mitzutheilen die Güte hatte, die Zahl der Tuberculösen unter den Lungenkranken auf etwa ein Viertel.

Für die weitere Besprechung ist die folgende Tabelle von höchstem Werthe.

Es waren:

Tabelle XXV.

	I. Die Väter Schleifer	II. Die Väter brustkrank	III. Die Mütter brustkrank	IV. Die Geschwist. brustkrank
von den				
a) 200 Gesunden . . .	37·0 %	24·5 %	7·0 %	10·0 %
b) 1250 Untersuchten überhaupt . . .	37·4 „	29·7 „	11·2 „	15·6 „
c) 150 Brustkranken .	36·0 „	34·0 „	16·7 „	24·6 „



Durch Rubrik I wird die bereits oben ausgesprochene Ansicht bestärkt, dass die „Schleiferkrankheit“ als solche nicht auf irgend welcher Heredität beruht; denn die Gesunden sowohl, als die Untersuchten überhaupt, wie auch die Brustkranken waren in gleichem Procentsatz Schleiferssöhne. Die Schleiferkrankheit schafft, ebenso wie die meisten chronischen Brustaffectionen überhaupt, eben nur den zur Aufnahme und zum Fortkommen des Tuberkelbacillus günstigen Nährboden. Begünstigt wird die tuberculöse Infection natürlich durch zwei Hülfsmomente, nämlich durch die hereditäre Disposition und durch das Zusammenleben mit tuberculösen Angehörigen. Einen eclatanten Beweis für die hohe Bedeutung dieser beiden Hülfsmomente bieten die Rubriken II bis IV der letzten Tabelle, deren Besprechung wir unterlassen können, da die Zahlen als solche für den Sachverständigen genügen.

Die hereditäre Disposition, die wir, dem Gesagten zufolge, für einen bestimmten Procentsatz annehmen müssen, zeigte sich uns bei der Untersuchung insofern, als bei den unter 20 Jahre alten Schleifern 10·5 Proc. mit Hyperplasieen des lymphatischen Ringes behaftet waren. Abgesehen von diesen Affectionen, die, wie bereits erwähnt, auf einer scrophulösen Basis beruhen und fast immer von Halsdrüsenschwellung begleitet waren, boten die jungen Schleifer in der grössten Mehrzahl das Bild vollster Gesundheit.

Es erübrigt die Besprechung des Alkoholmissbrauchs, einer Schädlichkeit, die auf die Gesundheitsverhältnisse der Schleifer von nicht zu unterschätzendem Einfluss ist.

Es ist erklärlich, dass das Gefühl von Trockenheit im Halse, welches den angehenden Schleifer in der ersten Zeit seiner Berufsthätigkeit belästigt, ihn zu häufigem Trinken veranlasst. Ebenso erklärlich ist es, dass er allmählich vom Wasser, falls er überhaupt damit begann, abkommt und zum Biere übergeht. Nach und nach stellt sich die Gewöhnung an den Alkohol und das Bedürfniss nach grösseren Mengen und stärkerer Concentration, und damit der Uebergang zum Branntweintrinken ein. Es entwickelt sich auch wohl in der einen oder anderen Schleiferei eine Art von Corpsgeist in der schlimmsten Bedeutung des Wortes, der zur Verführung der neu eintretenden Stubenkameraden Anlass giebt. Man findet nicht selten Stuben, ja sogar, wenn auch nur vereinzelt, ganze Schleifereien, die vorwiegend mit Trinkern besetzt sind, und sich schon äusserlich durch den gewöhnlich in ihnen herrschenden Mangel an Ordnung und Reinlichkeit kenntlich machen. In diesen Schleifereien setzen sich die Leute in den ersten Tagen der Woche zum Essen und Zechen zusammen, so lange ihr Verdienst das erlaubt, und arbeiten dann an den übrigen Wochentagen desto intensiver, um für die Gelage der nächsten



Woche wieder das Geld zu verdienen. Glücklicher Weise finden sich solche Schleifereien nur ganz vereinzelt, und wir müssen hier ausdrücklich betonen, dass die Mehrzahl der Schleifer solche Elemente gern von sich abstösst.

Die Folgen des Alkoholmissbrauchs und dieser unregelmässigen Lebensweise äussern sich nicht nur in einer Herabsetzung der Widerstandskraft gegen krankmachende Einflüsse, sondern auch positiv krankmachend. — Objectiv nachweisbar war bei den Alkoholisten ausser den bekannten nervösen Störungen ganz besonders Fettherz und Fettleber.

Wir fanden:

Fettherz bei 138 = 11·0 Procent.
Fettleber „ 67 = 5·4 „

Dieselben vertheilen sich folgendermassen auf die Lebensalter:

Tabelle XXVI.

Jahre	I. Fettherz	II. Fettleber
14—20	2 von 353 = 0·6 %	0 = 0 %
21—25	5 „ 282 = 1·8 „	1 = 0·4 „
26—30	19 „ 213 = 8·9 „	8 = 3·8 „
31—35	34 „ 167 = 20·4 „	15 = 9·0 „
36—40	25 „ 91 = 27·5 „	14 = 15·4 „
41—45	20 „ 59 = 33·9 „	12 = 20·3 „
46—50	14 „ 32 = 43·7 „	7 = 21·9 „
51—55	10 „ 23 = 43·5 „	9 = 39·1 „
56—60	5 „ 19 = 26·3 „	0 = 0 „
61—65	4 „ 11 = 36·4 „	1 = 9·1 „

Zum Schluss müssen wir noch Einiges über den sogenannten „Rheumatismus“ der Schleifer sagen. Wir fanden ihn in 55 Fällen, d. i. 4·4 Proc. der Gesammtzahl. Er hat seinen Ursprung zum Theil in den Erkältungen, denen sich die Schleifer durch unvorsichtiges Verhalten, wie bereits erwähnt, aussetzen. Ausserdem sind die Nassschleifer vielfach Durchnässungen ausgesetzt, die zu Rheumatismus führen. Diese Fälle sind als Rheumatismus im engeren Sinne anzusehen. In einer anderen Reihe von Fällen, die in unserer Rheumatismus-Statistik mit inbegriffen sind, handelt es sich um Kreuzschmerzen in Folge des anhaltenden Krummsitzens oder um Armschmerzen in Folge der Anstrengung der Arme beim Anpressen der Waare gegen den Stein. Diese beiden letztgenannten Kategorieen bildeten den weitaus grössten Theil der Fälle.



Schlussfolgerungen und Vorschläge.

Die hauptsächlichste Berufsschädlichkeit für die Schleifer ist der Staub. Seine Entwickelung muss deshalb möglichst verhindert und seine Beseitigung energisch angestrebt werden.

Zur Verhinderung der Staubentwickelung ist es geboten, nass zu schleifen, wo es irgendwie möglich ist.

Zur Beseitigung des Staubes am Orte der Entstehung dienen Ventilationseinrichtungen (vgl. Polizeiverordnung §§ 4 bis 9 und Ausführungsbestimmungen), auf deren möglichste technische Vervollkommnung hingearbeitet werden muss.

Da selbst durch die vollkommensten Staubabsaugevorrichtungen das Eindringen des Staubes in den Schleifraum nicht ganz und gar wird verhindert werden können, so ist dafür Sorge zu tragen, dass der sich in den Schleifstuben und auf den Geräthen ablagernde Staub möglichst oft und gründlich entfernt wird (vgl. Polizeiverordnung § 3).

Nicht nur auf möglichste Sauberkeit in den Schleifstuben, sondern auch auf Sauberkeit am eigenen Körper hat der Schleifer ganz besonders zu achten (vgl. Gesundheitliche Rathschläge S. 241). Einrichtung von Brausebädern ist besonders bei Neuanlagen von Schleifereien ein erstrebenswerthes Ziel.

Für die Erhaltung der durch die Wirkung des Staubes hochgradig gefährdeten Gesundheit des Schleifers ist von grosser Wichtigkeit, dass er bei der Arbeit durch die Nase athmet (vgl. S. 242), eine möglichst gerade Körperhaltung einnimmt (vgl. S. 242) und überhaupt die auf S. 242 aufgestellten gesundheitlichen Rathschläge befolgt.

Der Alkoholmissbrauch (vgl. S. 259), der den Schleifer sittlich und körperlich zu Grunde richtet, ist energisch zu bekämpfen. Namentlich ist das Branntweintrinken in den Schleifstuben während der Arbeitszeit gesetzlich zu verbieten (vgl. Polizeiverordnung § 12).

Das in den gesundheitlichen Rathschlägen über die Auswahl der Lehrlinge Gesagte bedarf keiner Ergänzung. Namentlich halten wir nach unseren Untersuchungen eine obligatorische ärztliche Untersuchung der Lehrlinge vor Eintritt in den Schleiferberuf nicht für nöthig, da fast alle Lehrlinge einen gesunden und kräftigen Eindruck machten.

Ebenso halten wir eine obligatorische, regelmässig jährlich oder in kürzeren Zwischenräumen vorzunehmende ärztliche Untersuchung aller Schleifer nicht für nöthig.



Die Schleifer, welche ja alle in Krankenkassen sind, holen selbst bei der leichtesten Störung den Rath eines Arztes schon von selbst ein.[1]

Ausser diesen theils durch Polizeiverordnung, theils durch die gesundheitlichen Rathschläge bereits erledigten Punkten sind nun noch folgende Maassnahmen von Wichtigkeit; welche wir eventuell durch polizeiliche oder gesetzliche Vorschriften geregelt wissen möchten:

Von grossem prophylaktischen Werthe ist die genaue Einhaltung der Arbeitszeit und die richtige Einlegung von Pausen.

Eine zehnstündige Arbeitszeit wird für den Erwachsenen, eine achtstündige für den jugendlichen Arbeiter als Maximum anzusehen sein.

Es ist ferner empfehlenswerth, mehr, wenn auch kürzere Pausen einzuführen, um eine möglichst häufige Lüftung der Lungen zu ermöglichen.

Zur Therapie müssen wir vor allen Dingen betonen, dass die Lungenschwindsucht der Schleifer ihrer ganzen Entstehung nach als heilbar betrachtet werden muss.

Freilich gehört zur Erreichung der Heilung, dass die Erkrankten in möglichst frühem Stadium ihres Leidens auf längere Zeit aus ihrem Berufe genommen und in thunlichst günstige hygienische Verhältnisse versetzt werden.

Unter den gegenwärtigen Verhältnissen, wo die erkrankten Schleifer, wenigstens soweit sie selbstständig sind, nur auf die Hülfsmittel der Krankenkassen und auch auf diese nur für die kurze Zeit von 13 Wochen angewiesen sind, kann etwas Erspriessliches für die dauernde Heilung nicht erreicht werden. Denn die Leute, die trotz ihres verhältnissmässig hohen Verdienstes meist von der Hand in den Mund leben, sind im Falle einer Erkrankung auf das ihnen zustehende Krankengeld zum Lebensunterhalte angewiesen und müssen wohl oder übel nach Ablauf der 13 Wochen in ihren Beruf zurückkehren, wenn sie überhaupt noch arbeiten können.

[1] Es consultirten einen Arzt nach officiellem Bericht:

I. Ortskrankenkasse Ohligs für Schleifer, Ausmacher und Polirer:

1896	von 949 Schleifern	804 = 84·7 Proc.		
1897	„ 872 „	710 = 81·4 „	durchschnittlich 83·2 Proc.	
1898	„ 777 „	649 = 83·5 „		

(Hiervon waren erwerbsunfähig nach 3jährigem Durchschnitt nur 27·4 Procent.)

II. Ortskrankenkasse Höhscheid für Schleifer:

1896	von 560 Schleifern	347 = 61·9 Proc.	
1897	„ 508 „	325 = 64·0 „	durchschnittlich 61·5 Proc.
1898	„ 471 „	276 = 58·6 „	

(Hiervon waren erwerbsunfähig nach 3jährigem Durchschnitt 38·5 Procent.)

Aus den Tabellen geht deutlich hervor, dass die Schleifer bei leichten Beschwerden schon zum Arzte gehen.



Die nothwendige Folge dieser Verhältnisse ist, dass die Schleifer, sofern sie nicht in einen anderen Beruf übergehen, selten ihre Arbeit über 13 Wochen hinaus unterbrechen, wie das auch aus unserer Statistik (S. 246) hervorgeht.

Eine Besserung würde sich sicher dadurch erzielen lassen, dass die Alters- und Invaliditäts-Versicherung auch auf die selbstständigen Schleifer (67·4 Proc. der Gesammtzahl) ausgedehnt wird.

Abgesehen von der dem Erkrankten dadurch gegebenen Garantie, dass er nach Wegfall der Krankenkassen-Unterstützung eventuell auf das Eintreten der Invaliditätsversicherung rechnen kann, kommt noch ganz besonders das Interesse in Betracht, das die Alters- und Invaliditätsversicherung an der baldigsten Herstellung der Gesundheit oder doch der Erwerbsfähigkeit ihrer Versicherten hat.

So würden den Schleifern die bereits vorhandenen oder im Baue begriffenen Lungenheilstätten eher geöffnet werden, als wenn nur die Krankenkassen, Communen oder die Privatwohlthätigkeit für sie eintreten.

Wir sind überzeugt, dass durch eine genügend lange Behandlung in den Heilstätten die Lungenschwindsucht der Schleifer geheilt werden kann; ebenso sicher sind wir aber auch überzeugt, dass selbst die günstigsten Resultate bei der Rückkehr in den alten, gesundheitsschädlichen Beruf zu Schanden gemacht werden können. Daher muss auf Mittel und Wege gesonnen werden, wie sich gleichzeitig im Anschluss an die Anstaltsbehandlung ein Berufswechsel der Schleifer ermöglichen liesse.

Nur durch solche energische Maassnahmen wird man dem Erbfeinde der Schleifer beikommen können.

Litteratur.

1. Frhr. v. Hauer, *Statistische Darstellung des Kreises Solingen.* 1832.

2. Melbeck, *Statistische Darstellung des Kreises Solingen.* 1860.

3. Turner Thackrah, Mortality in trades and professions. *Edinburgh review.* Jan. 1860.

4. Seltmann, Die Anthrakosis der Lungen bei den Kohlenbergarbeitern. *Deutsches Archiv für klin. Medicin.* 1867. Bd. II.

5. F. A. Zenker, Ueber Staubinhalationskrankheiten der Lunge. *Ebenda.*

6. Krumme, *Correspondenzblatt für öffentl. Gesundheitspflege.* 1874/75. Bd. IV.

7. Merkel, Staubinhalationskrankheiten. v. Ziemssen's *Handbuch der spec. Pathologie u. Therapie.* 1875. Bd. I.

8. C. Hall, Effects of trades of Sheffield on the workmen emploied in them. *British med. Journal.* 1876.

9. Eulenberg, *Gewerbehygiene.* 1876.

10. Oldendorff, *Der Einfluss der Beschäftigung auf die Lebensdauer des Menschen.* Berlin 1878.

11. Fischer, *Die Bearbeitung der Metalle.* 1890.

12. Arlidge, *The Hygiene, Diseases and Mortality of occupations.* London 1892.

13. H. Wegmann, Der Staub in den Gewerben mit besonderer Berücksichtigung seiner Formen und der mechanischen Wirkung auf die Arbeiter. *Archiv für Hygiene.* 1894. Bd. XXI.

14. *Preussische Statistik*, herausgegeben in zwanglosen Heften v. Kgl. Statist. Bureau in Berlin. Bd. CXLVIII. Ergebnisse der Volkszählung von 1895 im preuss. Staate.

15. Gebhard, Die Erbauung von Heilstätten für Lungenkranke. (*XX. Vers. d. D. V. f. öffentl. Gesundheitspflege.*) 1896.

16. *Jahresberichte der Kgl. preuss. Gewerberäthe.* 1890—1897.

17. Th. Sommerfeld, *Handbuch der Gewerbekrankheiten.* Berlin 1898. Bd. I.

18. *Acten des Landrathsamtes Solingen, betr. „gesundheitl. Verbesserungen in Schleifereibetrieben.“* 1825—1898.

19. G. Cornet, Die Infectionsgefahr bei Tuberculose. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1899. Nr. 11.



Ueber Diphtheriebacillen und Diphtherie in Scharlachabtheilungen.

Von

Prof. **Soerensen,**
ärztlichem Director des Blegdamspitales in Kopenhagen.

II.

Im dritten Versuchsjahre — Sommer 1897 bis Sommer 1898 — wurde die Virulenz der gefundenen Bacillen in grösserem Umfange durch subcutane Injection an Meerschweinchen festgestellt.

Am Anfange des genannten Zeitraumes enthielt das Spital 80, am Schlusse desselben 134 Scharlachkranke und in der Zwischenzeit kamen 743 zur Aufnahme. Der durchschnittliche Bestand an Scharlachkranken wird demnach 107, oder beinahe derselbe wie in den 2 vorausgegangenen Jahren.

Die umstehende Zusammenstellung giebt die Zahl von Diphtherieen, Bacillenfällen und Coccusanginen in den einzelnen Campagnen an.[1]

Im vorliegenden Jahre wurden demnach 16 Scharlachkranke mit Bacillen in das Spital aufgenommen und entstanden daselbst 17 Diphtherieen, 66 Bacillenfälle und 32 Coccusanginen.

Bacillen wurden demnach bei den Aufgenommen mit annähernd derselben Häufigkeit, wie in den vorausgegangenen Jahren (bezw. 16 und 18 Mal) gefunden, und dasselbe gilt für die Diphtherieen, von welchen das 1. Jahr 17, das 2. 15 enthielt. Dagegen war die Anzahl von Bacillenfällen (bezw. 116 und 92) und Coccusanginen (bezw. 43 und 58) grösser in den genannten Jahren.

---

[1] Beim Vergleiche der hier aufgeführten Zahlen mit den obenstehenden und den folgenden ist zu erinnern, dass die Campagnen z. Th. vor, z. Th. nach dem 1. VII. 1897 anfingen und theilweise vor oder nach dem 1. VII. 1898 abgeschlossen wurden. Wie in den früheren Versuchsjahren sind auch diesmal mehrere der sogenannten Campagnen nur Untercampagnen, da keine Reinigung des Locales dazwischen liegt.



3. Versuchsjahr.

	Zahl der Behandelten	Zeiträume	Neuaufgenommen mit D.-B.	Im Spitale entstandene Bacillenfälle	Diphtherieen	Coccusaffectionen
A/I	41	27. I. bis 10. VII. 97.	0	0	0	0
	22÷[1]6	18. XI. 97 „ 7. I. 98.	0	0	0	0
	26÷1	8. I. „ 21. III.	1	13	0	0
	39÷1	29. III. „ 27. VIII.	1	0	0	0
C/I	16	20. V. „ 26. VII. 97.	0	6	4	0
	93	16. VIII. „ 3. V. 98.	2	1	0	0
C/II	32÷2	20. IV. „ 5. IX. 97.	0	1	0	0
	68	11. X. „ 17. V. 98.	0	0	0	2
B/II	29	9. IV. „ 17. VII. 97.	0	2	0	0
	21	22. V. „ 18. VII. 98.	0	1	0	3
Baracke G/I	18	17. VII. „ 13. VIII. 97	0	0	0	1
G/I	45÷3	9. V. „ 16. VIII.	2	1	0	0
	23÷3	3. IX. „ 13. XI.	0	10	3	0
	27÷2	25. XI. „ 26. I. 98.	2	0	0	0
	76	27. I. „ 22. VI.	0	1	0	0
Baracke A	51	1. V. „ 25. VIII. 97	0	1	0	6
	51	27. VIII. „ 5. I. 98.	0	1	0	0
	53	6. I. „ 6. IV.	0	5	0	0
	10	9. IV. „ 23. IV.	0	0	0	0
	43	5. V. „ 18. VII.	0	0	2	0
G/IV	30÷2	26. VII. „ 30. X. 97.	2	3	0	4
	58÷3	4. XI. „ 30. III. 98.	2[2]	7	6	4
	27÷1	4. V. „ 2. VII.	1	1	0	8
G/II	43	26. VI. „ 24. XI. 97.	0	0	0	0
	19	11. XII. „ 2. II. 98.	0	1	0	1
	23	6. II. „ 9. IV.	0	0	0	2
	43÷1	12. IV. „ 16. VII.	1	0	0	0
Baracke C	8	13. X. „ 17. XI. 97.	0	0	0	0
	19	24. XI. „ 26. I. 98.	0	1	1	0
	[11[3]	29. I. „ 13. III.	0	0	0	0]
	20	15. III. „ 13. IV.	0	2	1	0
A/II	22÷1	6. XI. „ 12. I.	1[4]	0	0	0
	25	26. I. „ 15. III.	0	0	0	0
	17	15. III. „ 19. IV.	0	1	0	0
	17	23. IV. „ 4. VI.	1	0	0	0
	35÷4	5. VI. „ 17. VIII.	0	0	0	0
	20	17. VIII. „ 3. IX.	0	0	0	0
G/III	38÷4	9. VII. „ 25. IX. 97.	3	1	0	0

[1] + bezieht sich auf die gleich evacuirten Fälle.

[2] 1 = Diph. vera, 1 = Wärterin.

[3] Diese Kranken stammten alle aus inficirten Abtheilungen und hatten als Regel früher D.-B. gezeigt. [4] 1 = Diph. vera.



(Fortsetzung.)

	Zahl der Behandelten	Zeiträume	Neuaufgenommen mit D.-B.	Im Spitale entstandene		
				Bacillenfälle	Diphtherieen	Coccusaffectionen
G/III	41÷1	27.IX. „ 7.XII.97.	0	1	0	0
	25÷1	10.XII. „ 16.II. 98.	0	0	0	0
	28÷2	18.II. „ 5.V.	0	5	0	1
	27	18.V. „ 27.VII.	0	0	0	0
			19[1]	66	17	32

Wie in den früheren Versuchsreihen zeigten die Diphtherieinfectionen eine ausgesprochene Gutartigkeit. Kein Kranker starb an dieser Complication und die Fälle waren zum grossen Theile so leicht, dass keine scharfe Grenze zwischen Diphtherieen und Bacillenfällen gezogen werden konnte. Von den 17 Diphtherieen waren:

10 leichte Fälle — 1 zeigte nur Angina simplex.
5 mittlere „
2 schwere „

Unter den erwähnten 42 Campagnen kamen in 11 keine Bacillen vor. Aus 10 anderen Campagnen, in welchen gewöhnlich nur 1 Bacillenfall und 4 Mal Bacillen nur bei Neuaufgenommenen vorhanden waren, liegen keine Virulenzbestimmungen vor. Dasselbe gilt auch für eine Campagne, die keine Bacillenfälle, aber 2 schwere Diphtherieen enthält, und wo demzufolge die Bacillen unzweifelhaft virulent waren. In den übrigbleibenden 20 Campagnen gaben die Virulenzprüfungen das folgende Resultat:

Avirulente Bacillen	in 4 Campagnen	bei 6 Kranken	
schw. virulente „	„ 5 „	„ 15 „	(1 Diph.)
voll „ „	„ 11 „	„ 58 „	(14 Diph.)
		und einige Recidive.	

Avirulente Bacillen kamen in 4 Campagnen bei 6 Kranken vor.

In 3 Campagnen mit bezw. 43, 17 und 27 Kranken wurden die Bacillen nur bei 1 Kranken, einmal nur bei einem Aufgenommenen gefunden, und jedes Mal wurde nur eine Virulenzprüfung vorgenommen. In allen diesen Fällen zeigten die Thiere nur einen Gewichtverlust, welcher zwischen 18 ^{grm} bei einem 743 ^{grm} schweren, mit 2 ^{ccm} Cultur, und 50 ^{grm} bei einem 565 ^{grm} wiegenden, mit $1^1/_2$ ^{ccm} Cultur gespritzten Meerschweinchen variirte.

[1] 2 = Diph. vera, 1 = Wärterin.



In der 4. Campagne — G/IV, d. 26. VII. bis 30. X. 1897, zeigten unter 30 Kranken 2 Aufgenommene und 3 Kranke auf dem Saale Diphtheriebacillen. Bei einem (Oscar S.) der letztgenannten wurde nur eine Virulenzbestimmung gemacht, und das 500 ^{grm} schwere Meerschweinchen zeigte darnach nichts Krankhaftes. Mit den Bacillen des zweiten Kranken wurden 4 Thiere inficirt. Von diesen zeigten 3, welche bezw. 315, 350 und 545 ^{grm} wogen, nichts Besonderes, obgleich das letztgenannte Thier $2^1/_2$ ^{ccm} erhielt. Das 4., 250 ^{grm} schwere Thier war einige Tage unwohl und zeigte an der Impfstelle eine kleine Infiltration. Am oben genannten 315 ^{grm} wiegenden Meerschweinchen wurde später eine Impfung mit virulenten Bacillen gemacht, und das Thier starb dann 12 Stunden später als ein 500 ^{grm} wiegendes Controlthier. Mit Culturen vom dritten Kranken wurden 3 Meerschweinchen inficirt. Unter diesen zeigte ein 385 ^{grm} schweres Thier nichts Krankhaftes. Ein zweites Meerschweinchen bot an der Impfstelle einen erbsengrossen Knoten ohne Störung des Befindens dar, und bei einer folgenden Impfung mit virulenten Bacillen starb es gleichzeitig mit dem ebenso schweren Controlthiere. Das dritte Thier zeigte vorübergehendes Unwohlsein und eine kleine Infiltration an der Impfstelle und starb bei einer folgenden Impfung mit virulenten Bacillen später, als 2 grössere, mit Bacillen aus derselben Campagne — G/IV — 4. XI. 1897 bis 20. III. 1898 inficirte Controlthiere. Letztere wogen 510 und 640 ^{grm} und starben beziehungsweise 40 und 38 Stunden nach der Injection, während das ersterwähnte, 445 ^{grm} schwere Thier erst nach 58 Stunden verendete.

Absolute Avirulenz zeigten demnach die Bacillen in keinem der mehrmals geprüften Fälle.

Der geringen Virulenz entsprechend wurde in jeder Campagne gewöhnlich nur 1 Bacillenfall getroffen, und nur 1 Kranker zeigte im Schlunde eine unbedeutende weissliche Verfärbung ohne andere krankhafte Erscheinungen.

Schwach virulente Bacillen kamen in 5 Campagnen, welche 15 bacillentragende Kranken — 14 Bacillenfälle und 1 Diphterie — enthielten, vor.

In einer dieser Campagnen — Baracke C. d. 24. XI. 1897 bis 26. I. 1898 — zeigten unter 19 Kranken 2 Diphteriebacillen. Bei einem der letzt genannten waren die Bacillen nur einmal vorhanden, und die Reinzüchtung gelang nicht. Die Cultur vom zweiten Kranken — welcher als Diphtherie bezeichnet ist, da ausser Bacillen Angina vorhanden war — machte einem 655 ^{grm} schweren Meerschweinchen eine kleine Infiltration, ohne Störung des Befindens.

In einer zweiten Campagne — G/III, d. 27. IX. bis 7. XII. 1897 — zeigte unter 41 Kranke 1 am 6. XII. Diphteriebacillen und wurde damit



auf die Baracke A. verlegt. Die Cultur gab einem 370 grm wiegenden Meerschweinchen vorübergehendes Unwohlsein und eine 1-Pfennig grosse Infiltration.

In der dritten Campagne — Baracke A, 27. VIII. 1897 bis 5. I. 1898 — kamen unter 51 Kranken, ausser beim obengenannten verlegten noch bei einem anderen Reconvalescenten am 2. I. Bacillen vor. Gespritzt mit $1^1/_2$ ccm Cultur von diesem Kranken, zeigte ein 688 grm schweres Meerschweinchen eine kleine, aber deutliche Infiltration ohne sonstige krankhafte Symptome und hatte dadurch anscheinend eine leichte Immunität erreicht. Gespritzt mit virulenten Bacillen aus der früher erwähnten Campagne 4. XI. 1897 bis 30. III. 1898 in G/IV, war es zwar krank und hatte an der Injectionsstelle eine grosse gangränöse Infiltration, kam aber doch mit dem Leben davon.

In der 4. Campagne — Baracke A, d. 6. I. bis 6. IV. 1898 — zeigten von 53 Kranken 6 Bacillen (Einer war damit zugekommen), und bei 4 von diesen wurde die Virulenz der Bacillen geprüft. In 2 Fällen zeigten die mit 1 ccm Cultur gespritzten Thiere nur eine kleine, kaum charakteristische Infiltration. Im 3. Falle erhielt das 589 grm schwere Thier 2 ccm Cultur und zeigte darnach eine kleine, harte Infiltration, die nach 2 Wochen noch erbsengross war. Gleichzeitig hatte das Thier 30 grm an Gewicht verloren. Im 4. Falle erhielt das 710 grm wiegende Meerschweinchen 3 ccm Cultur und zeigte Anfangs nur eine kleine, nicht charakteristische Infiltration, vierzehn Tage später einen kaum erbsengrossen Knoten an der Impfstelle, und hatte dann 120 grm an Gewicht verloren (schlechte Wartung?). Ausgesprochene Aenderung des Befindens wurde bei keinem dieser Thiere bemerkt.

In der 5. Campagne — G/III, d. 18. II. bis 5. V. 1898 — kamen unter 28 Kranken Diphtheriebacillen 5 Mal vor, und bei 4 von diesen Kranken wurden Virulenzbestimmungen gemacht. Zwei Mal wurden hierdurch avirulente Bacillen gefunden, indem im ersten Falle das Meerschweinchen nichts Krankhaftes darbot, während im zweiten Falle wohl ein 290 grm schweres Thier eine kleine, kaum charakteristische Infiltration zeigte, ein anderes, 365 grm wiegendes Meerschweinchen aber keine Symptome nach der Injection von 3 ccm Cultur darbot. Die Cultur von dem 3. Kranken machte einem 325 grm schweren Meerschweinchen eine kleine Infiltration und einen Gewichtverlust von 55 grm; 2 ccm Cultur von dem 4. Kranken erzeugte bei einem 608 grm wiegenden Thiere eine 10-Pfennig grosse typische Infiltration und dieses Thier zeigte gleichzeitig ausgesprochene Mattigkeit.

In den erwähnten Campagnen, wo die Bacillen als schwach virulent bezeichnet sind, wurde zwei Mal eine grössere Zahl von Bacillenfällen ge-



troffen, und schien demzufolge der Infectionstoff hier ein grösseres Verbreitungsvermögen als die sogenannten avirulenten Bacillen zu besitzen.

Hinsichtlich der Pathogenität waren die beiden Bacillenarten gleich unwirksam, indem nur 1 Kranker mit avirulenten Bacillen eine kleine Verfärbung im Schlunde, 1 Kranker mit schwach virulenten Bacillen eine einfache Angina darbot.

Virulente Bacillen wurden in 11 Campagnen, in welchen 14 Diphtherieen, 44 Bacilfälle und einige Recidive letztgenannter Art verkamen, getroffen. Weiter waren die Bacillen unzweifelhaft virulent in einer 12. Campagne, welche zwei schwere Diphtherieen, aber keine Bacillenfälle enthielt.

In derjenigen Campagne — Baracke C, d. 29. I. bis 13. III. 1898 — welche nur Recidive von Bacillen zeigte, betraf die Virulenzprüfung einen Fall, welcher am 3. I. mit Croup in das Spital gekommen, bald nachher Scharlach acquirirt hatte und am 3. III. keine Bacillen, am 7. III. wieder solche zeigte. Das 550 grm schwere Meerschweinchen starb hier erst nach 9 Tagen, bot aber bei der Section typische Veränderungen in den Organen dar.

In einer 2. Campagne — C/I, d. 16. VIII. 1897 bis 3. V. 1898 — wo Bacillen nur bei 2 Neuaufgenommenen und einer Verlegten, welche vom 9. XI. bis zum 10. XI. auf dem Isolirzimmer lag, vorkamen, wurde die Virulenz der Bacillen der letztgenannten Kranken durch indirecte Prüfung festgestellt. Das Kind inficirte seine Mutter mit Bacillen, und die Cultur von dieser tödtete ein Meerschweinchen in 60 Stunden.

In 2 Campagnen kamen die Bacillen nur bei Neuaufgenommenen vor.

In der einen Campagne — A/I, d. 29. III. bis 27. VIII. 1898 — zeigte unter 39 Kranken nur eine Aufgenommene (Aglä Dahl) Diphtheriebacillen. Das 764 grm schwere, mit 2 ccm Cultur gespritzte Meerschweinchen war darnach krank, zeigte eine 1-Mark grosse Infiltration und einen Gewichtverlust von 100 grm.

In der 2. Campagne — G/I, d. 25. XI. 1897 bis 26. I. 1898 — wurden unter 27 Kranken Bacillen bei 2 Aufgenommenen gefunden. Die Cultur aus dem einen Falle tödtete ein 300 grm schweres Meerschweinchen in 36 Stunden; die andere Cultur verursachte einem 722 grm wiegenden Thiere eine 10-Pfennig grosse Infiltration.

Von den 7 übrigbleibenden Campagnen zeigten drei nur Bacilfälle.

In der einen Campagne — G/II, d. 1. XII. 1897 bis 2. II. 1898 — wurden unter 19 Kranken nur einmal (1. II.) Bacillen getroffen. Das 495 grm schwere Thier starb 36 Stunden nach der Impfung.

In einer 2. Campagne — B/II, d. 22. V. bis 18. VII. 1898 — zeigte unter 21 Kranken eine Bacillen und eine nicht charakteristische weissliche Verfärbung im Schlunde. Die Bacillen wurden nur an zwei auf einander

folgenden Tagen getroffen, dennoch starb das 425 grm schwere Meerschweinchen 72 Stunden nach der Infection.

In der 3. Campagne — A/I, d. 8. I. bis 21. III. 1898 — zeigten unter 26 Kranken ein Neuaufgenommener und 13 Kranke auf dem Saale Diphtheriebacillen, während ein 15. Kranker dieselben wahrscheinlich aus einer anderen Abtheilung mitgebracht hatte. Drei bezw. 450, 385 und 460 grm schwere, von ebenso vielen frischen Bacillenfällen inficirte Meerschweinchen starben bezw. 39, 36 und 26 Stunden nach der Infection, ein viertes, mit der Cultur aus einem seit 5 Wochen Bacillen tragenden Falle inficirtes Thier zeigte nur eine kleine Infiltration und einen Gewichtverlust von 30 grm.

In 4 Campagnen kamen auch Diphtherieen vor.

In einer von diesen Campagnen — Baracke C, d. 15. III. bis 13. IV. 1898 — waren von 20 Kranken 2 mit Bacillen zugekommen und 1 Diphtherie und 2 Bacillenfälle auf dem Saale entstanden. Die Cultur von dem einen der letztgenannten Fälle tödtete ein 577 grm schweres Meerschweinchen in 40 Stunden; 2 ccm Cultur von dem anderen Falle, wo die Bacillen nur 3 Tage vorhanden waren, ein 536 grm wiegendes Thier in 16 Stunden.

In einer zweiten Campagne — C/I, d. 20. V. bis 26. VII. 1897 — kamen unter 16 Kranken 6 Bacillenfälle, 3 leichte und eine mittelschwere Diphtherie vor. Der letztgenannte Kranke zeigte am 4. VII. nur Kokken, d. 12. VII. Bacillen, d. 13. VII. Belege im Schlunde, und ein mit der Cultur vom 12. VII. geimpftes Meerschweinchen war nach 48 Stunden gestorben.

In der 3. Campagne — G/IV, den 4. XI. 1897 bis 30. III. 1898 — waren von 58 Kranken 2 mit Bacillen aufgenommen worden und auf dem Saale entstanden 7 Bacillenfälle und 6 Diphtherieen, darunter 1 mittelschwerer und 5 leichte Fälle. Von 4 mit Culturen aus ebenso vielen Bacillenfällen inficirten Meerschweinchen starben 3 bezw. 310, 640 und 445 grm schwere Thiere bezw. 40, 38 und 58 Stunden nach der Impfung, während ein 630 grm wiegendes, mit $1^1/_4$ ccm Cultur gespritztes Meerschweinchen zwar eine grosse, gangränöse Infiltration darbot, aber doch mit dem Leben davon kam. Wie schon erwähnt, war aber dieses Thier früher mit schwach virulenten Bacillen geimpft, und das nach 58 Stunden crepirte Meerschweinchen hatte eine Impfung mit avirulenten Bacillen durchgemacht.

In der 4. Campagne — G/I, d. 3. IX. bis 13. XI. 1897 — kamen unter 23 Kranken 3 Diphtherieen und 10 reine, 3 auch coryza zeigende Bacillenfälle vor. Von den Diphtherieen waren 2 etwa mittelschwer, 1 mittelschwer. Bei der Virulenzprüfung tödteten die Culturen:



von den 3 Diph. die 330, 500 und 400 grm schweren M. in 60, 48 u. 48 St.
„ „ 2 Bacill. „ 360, 315 „ „ „ „ 60, 60 „
Fällen mit Coryza.
„ „ 4 Bacill. „ 340, 350, 550, 730 „ „ „ „ 60, 60, 40, 38 „

Von den letzterwähnten 4 Fällen zeigte Nr. 1 nur 1 Mal, Nr. 2 nur 2 Mal Bacillen. Als die Virulenzprüfung vorgenommen wurde, hatte Nr. 3 schon 10, Nr. 4 schon 30 Tage Bacillen dargeboten.

Von allen 26, aus ebenso vielen Kranken inficirten Meerschweinchen überlebten demnach nur 4 die Infection, und in einem dieser Fälle hatte das Thier früher eine Infection mit schwach virulenten Bacillen durchgemacht. In 2 anderen Fällen stammten die Culturen von 2 mit Diphtheriebacillen in das Spital gekommenen frischen Scharlachfällen, bei welchen, wie schon früher erwähnt und später besprochen werden soll, die Bacillen nur ein kümmerliches Dasein fristen. Im 4. Falle beherbergte der betreffende Kranke schon längere Zeit Diphtheriebacillen, sonst fehlt eine ausreichende Erklärung der geringen Virulenz des Contagiums.

Als Regel starben also die Meerschweinchen, und die Grenze zwischen virulenten Bacillen auf der einen, avirulenten oder schwach virulenten Formen auf der anderen Seite war demzufolge hier recht scharf.

Für die Campagnen gilt dasselbe. In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle kamen in einer Campagne entweder schwach oder vollvirulente Bacillen vor.

Als Regel trat der Tod ein paar Tage nach der Infection ein. 1 Mal crepirte doch das Versuchsthier erst nach 9 Tagen; da aber der betreffende Kranke 5 Wochen früher seine Diphtherie acquirirt hatte, liegt auch hier die Möglichkeit vor, dass die Bacillen durch längeres Wachsthum auf ungeeignetem Boden an Virulenz verloren hatten.

Auch eine dritte Erfahrung scheint dafür zu sprechen, dass die Bacillen zuweilen nach und nach ihre Virulenz einbüssen. Bei der früher erwähnten Aglä Dahl, welche bei ihrer Aufnahme[1] am 10. IV. virulente Bacillen zeigte, waren später[2] zuweilen Bacillen, zuweilen keine solche

[1] Campagne 29. III. bis 27. VIII. 1897 in A/I.

[2]

Abth.				Abth.			
Abth.	B/II	13. IV.	C.	Abth.	G/I	3. VI.	C.-B.
„	„	16. IV.	C.	„	„	4. VI.	D.-B.
„	„	22. IV.	C.-B u. D.-B.	„	„	9. VI.	„
„	„	29. IV.	D.-B.	„	„	10. VI.	kein Wachsthum
„	„	5. V.	„	„	„	11. VI.	D.-B.
„	C/II	11. V.	C.-B.	„	„	18. VI.	„
„	G/I	17. V.	„	„	F.	23. VI.	„
„	„	20. V.	D.-B.	„	„	27. VI.	„
„	„	27. V.	C.			Entlassen.	
„	„	28. V.	D.-B.				

vorhanden, und eine am 18. VI. vorgenommene Prüfung gab avirulente Bacillen, indem ein 445 grm schweres Meerschweinchen nur mit einem Gewichtverluste von 10 grm nach einer Injection von 1 ccm Cultur reagirte, und ein 305 grm schweres Thier nach der Injection von 3 ccm nur eine unbedeutende Infiltration und einen Gewichtverlust von 15 grm darbot.

In diesem Falle liegt aber auch die Möglichkeit vor, dass die Anfangs vorhandenen Bacillen geschwunden und eine neue Flora zugekommen war.

Dass etwas Solches vorkommen kann, scheint aus dem folgenden Falle hervorzugehen.

Ein Knabe (Oscar S.) zeigte in der Abtheilung G/IV am 28. X. avirulente Bacillen und wurde am 30. X. auf die Bacillenstation verlegt. Den 12. XI. wurde wieder eine Virulenzprüfung seiner Bacillen vorgenommen, und dieselben tödteten jetzt ein 305 grm schweres Meerschweinchen in 60 Stunden.

Hier liegt gewiss die Annahme am nächsten, dass der Knabe auf der Bacillenstation mit virulenten Bacillen inficirt worden sei.

Die besprochenen Fälle sind aber nur Ausnahmen; die hier gefundenen Bacillen zeigten als Regel die gleiche Virulenz.

Dieses trifft auch zu für die Fälle, wo Bacillen nur einen oder wenige Tage gefunden wurden.

In der erwähnten Campagne in G/I zeigte 1 Kranker nur 1 Mal Bacillen, und das 540 grm schwere Meerschweinchen starb dennoch nach 60 Stunden. Ebenso bot in der besprochenen Campagne in G/IV 1 Kranker nur 1 Mal Bacillen dar, und obgleich das Thier früher zu einem Versuche mit avirulenten Bacillen gedient hatte, starb es jetzt 58 Stunden nach der Einspritzung. Auch dasjenige Thier, welches in diesen Versuchen am schnellsten (etwa 16 Stunden nach der Injection von 2 ccm Cultur) der Infection erlag, war mit der Cultur von einem Kranken (Baracke C, d. 15. III. bis 13. IV. 1898) welcher nur drei auf einander folgende Tage Bacillen dargeboten hatte, geimpft.

Bei der Beurtheilung der Verbreitungsfähigkeit der Bacillen sind aus der letztbesprochenen Gruppe von Campagnen 2 wegzulassen, weil die eine hauptsächlich früher inficirte Fälle umfasst, und der Bacillenfall der anderen Campagne nur eine Nacht auf dem Isolirzimmer der betreffenden Abtheilung verbrachte.

Unter den 9 übrigbleibenden Campagnen wurden in 2 Bacillen nur bei Neuaufgenommenen gefunden, und 2 andere Campagnen enthielten nur einen Bacillenfall.



In den 5 übrigbleibenden Campagnen kamen vor:

1	Mal	3	Bacillenfälle, worunter	1	Diphtherie
1	„	10	„ „	4	„
1	„	13	„ „	0	„
1	„	13	„ „	3	„
1	„	13	„ „	6	„

In 9 Campagnen mit bezw. 39, 27, 19, 21, 20, 16, 26, 23 und 58 Kranken. oder unter 249 solchen kamen also im Ganzen 57 Bacillenfälle vor. Die relative Menge von diesen ist demzufolge deutlich grösser als in den Campagnen mit schwach virulenten (15 Bacillenfällen unter 191 Kranken) oder avirulenten (6 Bacillenfälle unter 117 Kranken) Bacillen.

Bei dieser Zusammenstellung ist jedoch zu erinnern, dass die Menge der Bacillenfälle in erster Reihe von der Verlegung — bezw. dem Verbleiben — der inficirten Kranken beeinflusst wurde, und dass in dieser Versuchsreihe gewöhnlich nur die bacillentragenden Neuaufgenommenen und die Diphtherieen entfernt wurden.

Bezüglich der Pathogenität der Bacillen ist die Grenze zwischen diesen und den vorher besprochenen Campagnen recht scharf. Nur 2 Mal wurden dort minimale krankhafte Erscheinungen beobachtet, hier treffen wir 14 Diphtherieen. Soweit stimmt also die Pathogenität der Bacillen für Menschen mit ihrer Virulenz für Meerschweinchen überein.

Die einzelnen Campagnen und die isolirten Fälle zeigen aber keine solche Uebereinstimmung. Die Bacillen waren ebenso virulent, wo Bacillenfälle allein vorkamen, als in den Campagnen welche viele Diphtherieen enthielten, und dasselbe gilt für die isolirten Fälle. Ebenso waren die Bacillen von gleicher Virulenz, ob sie kurze oder lange Zeit persistirten.

Wenn ihre Virulenz unter ein gewisses Niveau gesunken ist, sind die hier besprochenen Bacillen nur unschädliche Schmarotzer. Selbst in voller Kraft stehend, vermögen sie aber nur bei einer Minderzahl der Ergriffenen krankhafte Erscheinungen hervorzurufen.

Was die Beziehung der Bacillen zur klinischen Diphtherie betrifft, so geht aus dieser Versuchsreihe hervor, dass das stets gefundene Ueberwiegen der Bacillenfälle zwar zuweilen auf die geringe Virulenz der Bacillen, häufiger aber auf die Unempfänglichkeit der Individuen zurückzuführen ist. Von 64 Bacillenfällen zeigten 6 avirulente, 14 schwach virulente, 44 voll virulente Bacillen, oder ein Contagium von gleicher Intensität, wie in schweren Diphtheriefällen.

Bezüglich des gruppeweisen Auftretens der Diphtheriefälle geht aus dieser Untersuchungsreihe hervor, dass demselben keine besondere Bösartigkeit des Infectionstoffes zu Grunde liegt.

In den betreffenden Campagnen war aber durchgehend eine grosse Menge von Fällen mit Diphtheriebacillen vorhanden.

Wie früher erwähnt, kamen im 2. Versuchsjahre im Ganzen 16 Diphtherieen vor, von welchen nicht weniger als 8 in einer Campagne — G/IV, d. 26. II. bis 27. V. 1897 — getroffen wurden, wo unter 32 Kranken noch 8 Bacillenfälle, oder Bacillen bei der Hälfte der Kranken vorhanden waren. Im 3. Versuchsjahre kamen von den 14 Diphtherieen der virulente Bacillen zeigenden Abtheilungen 13 in 3 Campagnen vor, welche unter 16, 23 und 58 Kranken bezw. 10, 13 und 13 mit Bacillen inficirte Fälle enthielten.

Wo Diphtherieen in grösserer Zahl auftraten, waren demzufolge die Abtheilungen in hohem Grade inficirt, und eine gleichmässige Vertheilung der empfänglichen Individuen vorausgesetzt, wäre daraus das haufenweise Auftreten der Diphtherieen zu erklären.

Eine solche Vertheilung der empfänglichen Individuen ist aber selbstverständlich nicht immer vorhanden, und andere unbekannte oder nicht festgestellte Momente spielen gewiss auch mit bei der Erzeugung der Diphtherie.

Dadurch wird es erklärlich, dass mitunter viele Bacillenfälle ohne gleichzeitige Diphtherieen, zuweilen Diphtherieen ohne begleitende Bacillenfälle getroffen werden.

In der vorigen Zusammenstellung findet sich eine Campagne — D/I, d. 16. VII. bis 28. XI. 1895, wo, trotzdem fast alle Kranken Bacillen zeigten, dennoch nur eine Diphtherie getroffen wurde, und in derjenigen Campagne, welche den einzigen letal geendeten Fall dieser Untersuchungsreihe enthält — Baracke G/VIII, d. 21. VII. bis 11. VIII. 1895 — blieben die 12 anderen Kranken frei von Bacillen. Im vorliegenden Versuchsjahre wurden in einer Campagne 13 Bacillenfälle, aber keine Diphtherie getroffen, und die 2 einzigen, schweren Fälle kamen in einer Campagne — Baracke A, d. 5. V. bis 18. VII. 1898 — wo keine Bacillenfälle[1] vorhanden waren, vor.

Ueber die erwähnten unbekannten oder nicht festgestellten Momente, welche möglicher Weise das Auftreten der Diphtherie begünstigen, lehren diese Versuche nichts. Setzt man voraus, dass z. B. gewisse atmosphärische Verhältnisse einen solchen Einfluss haben, erklärt die hier erwiesene, oft sehr verbreitete latente Infection das gleichzeitige Auftreten von Diphtheriefällen auf weit von einander liegenden oder gegenseitig isolirten Oertlichkeiten.

[1] Unter den betreffenden Kranken war aber in einer anderen Abtheilung früher ein Bacillenfall vorgekommen (siehe davon später).



Die hier getroffenen Verhältnisse erklären auch einigermassen das mehrmals beobachtete etappenweise Vorschreiten der Diphtherie. Nur durch Zuhülfenahme der erwähnten hypothetischen Momente wird aber die locale Culmination der Epidemieen und eine örtliche Immunität gegen die Krankheit verständlich. Der sogenannte Genius epidemicus ist gewiss nicht allein durch die Eigenschaften oder die Verbreitung der betreffenden Bakterien bedingt.

Zur Lösung des Problems, weshalb die Diphtheriefälle zuweilen schwer wurden, liefern die vorliegenden Untersuchungen nur einen kümmerlichen Beitrag. Wie schon erwähnt, war in der früheren Untersuchungsreihe die allgemeine Debilität möglicher Weise 2 Mal die Ursache der Schwere der Diphtherie, und in einer der schweren Fälle dieser Versuchsreihe war vielleicht eine günstige locale Disposition vorhanden, indem das betreffende — übrigens im Ganzen schwächliche Individuum, bevor es an Diphtherie erkrankte, mehrmals andere Anginaformen dargeboten hatte.

Anhaltspunkte für die Annahme, dass in den schweren Fällen das Contagium von besonderer Virulenz sei, oder dass dieselben vorwiegend bei weiter Verbreitung der Infection eintreten, enthalten diese Untersuchungen nicht.

Dagegen ist aber die Möglichkeit nicht abzuweisen, dass die durchgehende Milde der hier entstandenen Diphtheriefälle theilweise auf das in den Krankenabtheilungen gehandhabte Regime zurückzuführen sei. Durch die geordnete Lebensweise wurde möglichst die Empfänglichkeit vermindert, durch präventives Gurgeln dem Gedeihen des Contagiums Einhalt gethan.

Hinsichtlich des Entwickelungsmodus der Krankheit sahen wir auch in dieser Untersuchungsreihe, dass, wenn Diphtherie entstand, dies immer bald nach der Infection mit Bacillen geschah.

In der Abtheilung G/I zeigte:

	keine Bacillen	D.-B.	Diphtherie
Karen B.	14. X.		18. X.
Edith K.	14. X.	27. X.	28. X.

„ „ „ G/IV zeigte:

	keine Bacillen	D.-B.	Diphtherie
Will. S.	7. II.		14. II.
Chr. C.	7. II.		14. II.
Chr. H.	18. II.		25. II.

Gleichfalls entstand unter den zahlreichen bacillentragenden Individuen auch in dieser Versuchsreihe kein Fall von Diphtherie.

Bezüglich der Infectionsquellen bestätigen diese Beobachtungen unsere früheren Erfahrungen.



Auch hier schienen die in gewöhnlicher Weise gereinigten Krankenlocale keinen Infectionsstoff zu beherbergen.

In der Campagne 8. I. bis 20. III. 1898 in A/I waren 13 Fälle mit voll virulenten Bacillen entstanden; in der folgenden Campagne kam unter 39 Kranken kein Fall mit Bacillen vor. In der Campagne 3. IX. bis 13. XI. 1897 in G/I kamen unter 23 Kranken 3 Diphtherieen und 10 Fälle mit virulenten Bacillen, in der folgenden Campagne nichts dieser Art vor. In G/IV entstanden in der Campagne 4. XI. 1897 bis 30. III. 1898 unter 58 Kranken 6 Diphtherieen und 7 Fälle mit virulenten Bacillen, in der folgenden Campagne erst am 10. VI. 1 Fall mit avirulenten Bacillen.

Ein Versuch, eine inficirte Abtheilung mit Formalinräucherungen allein — ohne besondere Desinfection der Bettsachen — zu desinficiren, misslang aber.

Die Baracke C war vom 29. I. bis zum 13. III. 1898 Station für Kranke, die früher Diphtherie oder Bacillen dargeboten hatten, und Recidive — unter welchen ein geprüfter Fall virulente Bacillen zeigte — kamen daselbst mehrmals vor. Nach Räucherung mit Formalin wurde das Local wieder am 15. III. geöffnet und mit 16 bacillenfreien Reconvalescenten belegt; am 24. III. zeigten aber 2 Kranke virulente Bacillen, am 27. III. 1 Kranker Diphtherie.

Auch in dieser Versuchsreihe schienen die Bacillen der Neuaufgenommenen keine grosse Rolle als directe Infectionsquelle zu spielen.

Unter den 42 Campagnen enthielt 1 hauptsächlich Recidive von Bacillen, und 1 Mal war das Local selbst inficirt. Unter den übrigbleibenden 40 Campagnen enthielten 11 überhaupt keine Bacillen, in 8 Campagnen entstanden keine Fälle mit Diphtheriebacillen, obgleich Bacillenfälle zugekommen (aufgenommen oder dahin verlegt) waren; in 13 Campagnen entstanden Fälle mit Diphtheriebacillen, obgleich keine Bacillenfälle zugekommen waren, und in 8 Campagnen entstanden Fälle mit Diphtheriebacillen, nachdem Bacillenfälle zugekommen waren.

Mehr detaillirt, kamen die folgenden Verhältnisse vor.

In einer Campagne — G/III, d. 9. VII. bis 25. IX. 1897 — zeigten 4 Aufgenommene Diphtheriebacillen, von den anderen 29 Kranken aber nur 1 Bacillen und diese nur im Ohrenflusse. Unter 5 Campagnen mit 2 bacillentragenden Aufgenommenen kamen 2 Mal — G/I, d. 25. XI. 1897 bis 26. I. 1898 und C/I, d. 16. VIII. 1897 bis 13. V. 1898 — keine Bacillen, 1 Mal — G/I, d. 9. V. bis 16. VIII. 1897 — erst nach einem Monat 1 Bacillenfall vor, und in letzter Campagne waren in der Zwischenzeit alle Kranken frei von Bacillen gefunden. In der 4. Campagne — G/IV, d.



26. VII. bis 30. X. 1897 — hatten am 28. VII. und 31. VIII. 2 Aufgenommene Bacillen gezeigt, erst am 23. IX. und 28. X. wurden Bacillen bei 2 anderen Kranken gefunden. In der 5. Campagne — G/IV, den 24. XI. 1897 bis 30. III. 1898 — entstanden zwar später zahlreiche Bacillenfälle und Diphtherieen, die Infection ist hier aber mit grösserer Wahrscheinlichkeit auf einen in der Abtheilung hinliegenden Fall mit Diphtheriebacillen zurückzuführen. Unter den Campagnen mit 1 bacillentragenden Aufgenommenen liegen 1 Mal — B/I, den 8. I. bis 21. III. 1898 — dieselben Verhältnisse wie in der letzt erwähnten Abtheilung vor, 1 Mal — G/IV, d. 4. V. bis 2. VII. 1898 — entstand 6 Wochen, nachdem der Aufgenommene im Locale gewesen war, ein Fall mit Bacillen, 3 Mal keine Bacillen bei den anderen Kranken.

Wie in der vorigen Versuchsreihe ist dieses Verhältniss am einfachsten auf das schlechte Gedeihen der Diphtheriebacillen bei frischen Scharlachkranken zurückzuführen.

Im Zeitraume vom 1. IV. 1897 bis 11. V. 1898 zeigten 28 mit der Diagnose Scharlach in das Spital aufgenommene Kranken Diphtheriebacillen. Von diesen starb 1, bevor eine zweite Untersuchung vorgenommen war, und 3 waren wahrscheinlich gemeine Diphtherieen, da sie im Spitale keine Scharlachsymptome darboten. Von den übrigbleibenden 24 zeigten

13 Kranke 1 Mal Bacillen
7 „ 2 „ „
3 „ 3 „ „ 1 darnach gestorben
1 „ 5 „ „

und am häufigsten wurden demnach Bacillen nur bei der Aufnahme gefunden.

Wie in den vorausgegangenen Jahren, kamen aber Recidive recht häufig, im Ganzen 8 Mal, vor.

Von diesen kamen

2 bei Kranken vor, die 1 Mal Bacillen gezeigt hatten
4 „ „ „ „ 2 „ „ „ „
1 „ „ „ „ 3 „ „ „ „
1 „ „ „ „ 5 „ „ „ „

und Recidive kamen demnach besonders bei Kranken, die Anfangs mehrmals Bacillen gezeigt hatten, vor.

Die Feststellung der Virulenz der Bacillen war hier mit besonderen Schwierigkeiten verbunden. Nicht nur im Schlunde dieser Kranken, sondern auch in den Serumgläsern schienen die Bacillen schnell zu Grunde zu gehen. Mehrmals gelang es nicht, aus Culturen, die unzweifelhaft Bacillen

enthielten, solche zu züchten, und in anderen Fällen war die Reinzüchtung so schwierig, dass sie aufgegeben wurde. In solchen Fällen war es gewöhnlich auch unmöglich, neues einwandfreies Material herzuschaffen. Einerseits waren Bacillen oft nur bei der ersten Abimpfung vorhanden, andererseits wurden die betreffenden Kranken gleich auf die Bacillenstation verlegt, wo eine secundäre Infection mit anderen Bacillen nicht ausgeschlossen werden konnte.

Aus diesen Gründen liegen hier nur 6 Virulenzbestimmungen vor, welche die folgenden Resultate gaben:

2 Mal starben die	300 grm 625 „	schweren Meerschweinchen	36 Std. n. d. Einspr. 64 „ „ „ „
2 Mal zeigten die	722 „ 764[1] „	schweren Meerschweinchen ausgesprochene Infiltrat.	10-Pfennig gross 1-Mark gross
2 Mal zeigten die	355 „ 365 „	schweren Meerschweinchen nichts Krankhaftes	Gewichtsverl. 50 grm.

Wie in den früheren Versuchsjahren geschah das Weiterkriechen der Infection recht oft in einer weit mehr verborgenen Weise. Auch hier zeigten die bacillentragenden Individuen nicht bei jeder Untersuchung Diphtheriebacillen, und zuweilen waren Bacillen nur an Stellen, welche gewöhnlich nicht in die Untersuchung eingezogen werden, vorhanden.

Ein Beispiel des erstgenannten Vorkommens ist schon früher angeführt (Aglä Dahl, S. 272). Weitere Beispiele sind die folgenden:

Georg L. zeigte:

20. VI.	(bei der Aufnahme) C.	B/II
2. VII.	C., C.-B. und einzelne zweifelhafte D.-B.	B/II
3.	C.	B/II
17.	D.-B.	B/II
18.	D.-B.	Baracke G/I.
29.	D.-B.	Baracke G/I.
5. VIII.	Str.-C.	Baracke G/I.
12.	C.	Baracke G/I.
19.	grobe Stäbchen, C.-B. und D.-B.	Baracke A.
26.	kein Wachsthum	B/II
27.	D.-B.	B/II
7. IX.	D.-B.	B/II
13.	D.-B.	B/II
17.	C., C.-B.	B/II
20.	kein Wachsthum	B/II
21.	Str.-C.	B/II
	Entlassen.	

Agnes C. zeigte:

28. XI.	(bei der Aufnahme) virulente D.-B., C.
30.	D.-B.
2. XII.	C.
4.	C., D.-B.
6.	C. (Nase)
9.	C.
23.	D.-B.
30.	C.
6. I.	C.
13.	D.-B.
20.	D.-B., C.
27.	C.
3. II.	C.
10.	D.-B., C.
17.	C.
20.	C.
23.	Entlassen.

[1] Mit 2 ccm Cultur gespritzt; das Thier krank; Gewichtsverlust 100 grm.

Als Fälle, wo der Ansteckungsstoff nur an aussergewöhnlichen Stellen vorhanden war, können die folgenden angeführt werden.

Der einzige Kranke, welcher in der Campagne vom 9. VII. bis 25. IX. 1897 in G/III angesteckt wurde, zeigte nur in seinem Ohrenflusse Diphtheriebacillen. Bei einem Kranken der Campagne vom 8. I. bis 21. III. 1898 in A/I wurden die Bacillen Anfangs nur an einer Excoriation hinter dem Ohre gefunden.

Da solche Fälle leicht längere Zeit in dem betreffenden Locale verbleiben, werden dieselben dadurch gefährliche Ansteckungsquellen.

In der letzt erwähnten Campagne hatte zwar im Voraus ein Bacillen tragender Neuaufgenommener eine Nacht (am 10. I.) auf dem Saale verbracht, aber das oben erwähnte Kind wurde am 10. I. auf dem Isolirzimmer der Abtheilung aufgenommen, am 13. I. nach dem Saale verlegt, wo es bis zum 16. I. verblieb, — und am 19. I. wurden Bacillen bei einem anderen, am 29. I. bei noch drei Kranken, von welchen eine das erwähnte Kind gewartet hatte, später bei vielen solchen gefunden.

Verdächtig waren uns aber nicht nur die Kranken, welche früher Bacillen gezeigt hatten, sondern auch diejenigen, welche bloss der Ansteckung ausgesetzt gewesen waren, und dass dieser Verdacht berechtigt war, zeigt der folgende Fall.

Mit der Diagnose Diphtherie kam am 4. XI. 1897 eine Mutter mit ihrem Kinde in das Spital, welche beide in Bezug auf Scharlach verdächtig erschienen und deshalb im Isolirzimmer der betreffenden Diphtherieabtheilung untergebracht wurden. Am folgenden Tage war die Diagnose Scharlach ausser Zweifel, und, weil eine schon stattgehabte Infection mit Diphtheriebacillen nicht ausgeschlossen werden konnte, wurden die Kranken auf das Isolirzimmer der Bacillenstation der Scharlachseite verlegt. Wie das Resultat der Abimpfung bei der Aufnahme für Beide nur Kokken war, gab auch eine am 8. XI. vorgenommene Untersuchung keine Diphtheriebacillen, und am folgenden Tage wurden die Kranken deshalb auf das Isolirzimmer der Scharlachabtheilung C/I verlegt. Hier wurde am selben Tage wieder eine Untersuchung vorgenommen, und diese gab bei dem Kinde Bacillen, weshalb beide Kranken auf das Isolirzimmer der Bacillenstation zurückgelegt wurden. Hier bot am 30. XI. auch die Mutter Bacillen dar, welche bei der Virulenzprüfung sich voll virulent erwiesen.

Auch in anderen Fällen, wo gewiss kein stricter Beweis für die Berechtigung dieser Auffassung geführt werden kann, neigten wir dahin, solche Fälle als die Ansteckungsquellen zu betrachten.

In einer Campagne — G/I, d. 3. IX. bis 13. XI. 1897 — mit vielen Diphtherieen und Bacillenfällen waren wir z. B. geneigt, die Infection auf drei Fälle zurückzuführen, welche früher auf Isolirzimmern bei Diphtherie-



abtheilungen gelegen hatten, und die gleich nach dem Auftritte des ersten Diphtheriefalles vorgenommene Untersuchung aller Kranken gab auch Bacillen bei zwei der genannten Kinder.

In einer anderen Campagne mit vielen Bacillen- und Diphtheriefällen — G/IV, d. 4. XI. 1897 bis 30. III. 1898 — wurde die Ansteckung möglicher Weise durch einen Fall, welcher erst spät Diphtheriebacillen zeigte, weiter getragen. In dieser Abtheilung, wo ein Bacillen tragender Aufgenommener, welcher sich später als eine echte Diphtherie entpuppte, vom 22. I. bis zum 23. I. gelegen hatte, zeigte am 27. I. der oben genannte und noch ein Kranker Beläge, aber — im Schlunde — keine Bacillen, am 3. II. ergab die Untersuchung der Nase bei dem Erstgenannten Bacillen.

Möglicher Weise war dieser Kranke auch die wahre Infectionsquelle, indem er mit der Diagnose Diphtherie in das Spital gekommen war und den ersten Tag (am 14. I.) auf einer Diphtherieabtheilung zugebracht hatte. Da Bacillen aber weder bei der Aufnahme, noch am 24. I. — diesmal auch nicht in der Nase —, noch am 27. I. gefunden wurden, bleibt diese Annahme nur eine Möglichkeit.

Ganz zurückzuweisen ist diese Möglichkeit aber nicht. Es kommen Fälle vor, die, obgleich selbst wiederholte Untersuchungen keine Bacillen ergeben, dennoch wahrscheinlich Diphtherieen sind, und ein solcher Fall findet sich auch in dieser Untersuchungsreihe.

In der Campagne vom 20. V. bis 16. VII. 1897, in der Abtheilung C/I, entstanden unter 16 Kranken nicht weniger als 4 Diphtherieen und 6 Bacillenfälle, ohne dass irgend eine Ansteckungsquelle gefunden werden konnte. Kein Bacillen tragender Kranke war dort aufgenommen, und als die Diphtheriefälle am 22. VI. anfingen, kamen keine Kranken in's Freie. Auf dem Isolirzimmer der Abtheilung lag aber vom 1. VI. bis zum 14. VI. ein Mann, welcher eine Scharlachzunge und Beläge ohne Bacillen, sonst aber keine deutlichen Scharlachsymptome, dagegen aber diphtherieähnliches Fieber und mittlere Beläge darbot und zu einem Hausstande gehörte, aus welchem gleichzeitig mehrere Mitglieder im Spitale an Diphtherie behandelt wurden.

Wahrscheinlich litt dem zu Folge auch dieser Mann an Diphtherie, oftmals wiederholte Abimpfungen ergaben aber immer nur Kokken.

Die heimtückische Fortpflanzungsweise der Ansteckung beleuchtet auch der folgende Fall.

In der damals als reine Scharlachabtheilung fungirenden Abtheilung B/II wurden vom 22. V. bis 18. VII. 1898 21 Kranke behandelt, unter welchen einer am 12. VII. virulente Bacillen darbot. Wie dieser Kranke angesteckt worden war, liess sich auch hier nicht ergründen; als Infectionsträger verdächtig waren aber zwei Kinder, die zwar von einer



anderen Scharlachabtheilung gekommen waren, aber aus der Croupabtheilung, wo sie Scharlach acquirirt hatten, herstammten. Am 18. VII. waren von den oben genannten 21 Kranken 2 gestorben, 1 entlassen, 3 verlegt, und von den 15 übrig bleibenden, welche jetzt alle frei von Bacillen waren, wurden 12 auf die Baracke A verlegt, während die oben genannten zwei verdächtigen Fälle und das Kind, welches am 17. VII. Bacillen gezeigt hatte, zurückgehalten wurden. Dessen ungeachtet erkrankten in der Baracke A, wo früher keine Bacillenfälle vorgekommen waren, am 26. VII. zwei der verlegten Kranken an schwerer Diphtherie und kehrten damit nach B/II zurück. Da auch später keine Fälle mit Bacillen in der erwähnten Baracke entstanden, liegt es hier gewiss am nächsten, anzunehmen, dass die genannten Individuen den Ansteckungsstoff in irgend einer Weise aus ihrer früheren Abtheilung mitgeschleppt hatten.



Nachtrag zu meiner Arbeit:

„Ueber Geisselfärbung bei Bakterien."

Von

Prof. Dr. **Zettnow**
in Berlin.

Mit den auf S. 97, Bd. XXX dieser Zeitschrift ihn betreffenden Angaben erklärt Hr. Dr. Welcke sich nicht einverstanden, da aus der Fassung nicht klar und deutlich genug hervorgeht, welcher Antheil an meiner Veröffentlichung ihm gebührt. Da es mir fern gelegen hat, ihm in irgend einer Hinsicht die Priorität vorwegnehmen zu wollen, ferner um Weiterungen für späterhin vorzubeugen, gebe ich im Folgenden Ausführlicheres über unser gegenseitiges Verhältniss:

Im Brief aus München vom 21. IV. 1898 bittet er mich, ihm grosse Bakterien zu senden, da er beabsichtige, Culturen solcher nach Einbettung in Paraffin „auf 1 bis 0·5 μ in verschiedenen Ebenen zu schneiden und dadurch über den Bau der Culturen sowohl wie des Einzelindividuums interessante Aufschlüsse zu bekommen hoffe." Ferner schreibt er: „Ich habe ein brauchbares und ziemlich sicheres Verfahren der Geisselfärbung ausgearbeitet, welches auf dem Princip der Reduction ammoniakalischer Silberlösung durch Bacillen, die mit tanninhaltiger Beize behandelt sind, beruht." Er wünscht Photogramme behufs Veröffentlichung und fragt an, wo er solche wohl angefertigt erhalten könnte.

Ich entsprach seinem Wunsche durch Uebersendung von Culturen der grossen Spirillen und erbot mich auch, einige Aufnahmen zu machen, falls seine Präparate tadellos seien.

Im 2. Briefe aus München vom 20. V. 1898 beschreibt er die Darstellung der ammoniakalischen Silberlösung und der von ihm benutzten „Bunge'schen Beize mit etwas vermehrtem Eisenchloridgehalt". Ueber



die zu gleicher Zeit eingesendeten Präparate, auf welchen, da Objectträger und nicht Deckgläser zum Ausstrich gedient hatten, die besten Stellen sorgfältig bezeichnet waren, habe ich mein Urtheil bereits auf S. 97 abgegeben; ich sandte sie zurück unter Mittheilung einer Anzahl von Vorsichtsmaassregeln, wie sie sich mir im Lauf der Zeit bei meinen Arbeiten ergeben hatten. Am 5. oder 6. Juni, nicht erst Mitte dieses Monats, wie ich irrthümlich angegeben habe, stellte ich die auf S. 97 mitgetheilten Versuche an, theilte am 13. Juni Hrn. Dr. Welcke meine Resultate mit, ohne mein Verfahren anzugeben, und fragte an: 1. ob er sein Verfahren nicht bald veröffentlichen wolle, 2. oder ob er mir gestatten wolle, dies zu thun, 3. oder ob er weiter arbeiten wolle, um sein Verfahren zu verbessern; ich stellte ihm auch vor, dass schleunige Veröffentlichung mir geboten erscheine, da er wohl, wie mir, so auch Anderen Mittheilung von seinem Verfahren gemacht hätte.

In seiner Antwort aus Iserlohn vom 14. VI. 1898 schreibt er: „Mit Genugthuung habe ich aus Ihrem werthen Schreiben ersehen, dass Sie auf dem von mir eröffneten Pfade zu gutem Ziele gekommen sind. Dass ich in dem Streben darnach überholt bin, vermag meine Freude an Ihrem interessanten Erfolge nicht zu mindern. Ich bin gerade dabei, die photographischen Verfahren, von deren Theorie ich wichtige Fingerzeige erwartete, zu studiren und wollte mir ausserdem bei meiner Rückkehr nach München Rath bei Chemikern holen. Eine Dunklerfärbung durch Nachbehandlung mit Formol und folgender Einwirkung von Goldchlorid hatte ich schon einmal versucht, aber zu wenig wirksam gefunden.“ Ferner: „Da aber eine schleunige Veröffentlichung viele Vortheile hat und da ich vor 14 Tagen die Arbeit nicht gut aufnehmen kann, würde ich Sie bitten, mit der Veröffentlichung nicht zurück zu halten. — Mir wäre dies auch deshalb angenehm, weil mir dadurch ermöglicht würde, mich einer bakteripathol. Arbeit über Blut zuzuwenden.“ Dann macht er den Vorschlag zu gemeinschaftlicher Veröffentlichung des Verfahrens; bemerkt, dass „eine wenn auch nur einfache wissenschaftliche Leistung ihm vom grössten Vortheil, z. B. bei Bewerbung um eine Stelle“, sein könne. Zum Schluss sagt er: „Indessen gebe ich ohne Vorbehalt die Regelung dieser Angelegenheit in Ihre Hände.“

Da ich durch diesen Brief Genaueres über Hrn. Dr. Welcke erfuhr, erklärte ich mich bereit, bis Mitte August zu warten, damit er sein Verfahren verbessern könne; lehnte jedoch gemeinschaftliche Veröffentlichung ab, da mir mein Verfahren dem seinigen gewaltig überlegen erschien.

Ende Juni erhielt ich seinen Besuch, zeigte ihm meine Präparate, auch die nach Löffler's Verfahren hergestellten, und bat ihn, tüchtig zu arbeiten, damit im August das Verfahren abgeschlossen wäre.



Im Brief aus Berlin vom 14. VIII. 1898 schreibt er: „Ich muss Ihnen sehr dankbar sein für die Demonstration Ihrer wundervollen Geisselpräparate. Denn angeeifert durch den Anblick wirklich guter Leistungen, habe ich nach Vernichtung der alten Präparate durch eine Reihe von Versuchen es dahin gebracht, Folgendes zu leisten." Er berichtet dann über seine Erfolge bei Proteus, Typhus, Cholera und zeigte mir bei einem Besuche seine neuen Präparate. Da diese kräftig und gut gefärbt, wenn auch nicht so klar wie die meinigen waren, ging von meiner Seite der Vorschlag gemeinschaftlicher Veröffentlichung aus; ein Anerbieten, welches nun von seiner Seite abgelehnt wurde. Bei seinen mehrfachen Besuchen im August und September habe ich mit Rathschlägen auf seine Anfragen nicht zurückgehalten, soweit solche sich nicht auf mein Verfahren bezogen; habe ihn mit schwieriger färbbaren Bakterien als die oben angeführten versehen, und als ich erfuhr, dass er zu allen Versuchen ein und dieselbe, in München angesetzte Beize benutzte, energisch darauf gedrungen, dass er eine neue herstellte; ihm auch, damit er endlich zum Abschluss seiner Arbeit gelangen sollte, einen Nebenraum meines Laboratoriums zur Verfügung gestellt, wo er völlig ungestört hätte arbeiten können.

Ende September stellte er seine Besuche ganz plötzlich ein; als ich auch nach mehreren Wochen von ihm nichts hörte, nahm ich als Grund für sein Fortbleiben meine bei seinem letzten Besuche endgültig ausgesprochene Weigerung an, Photogramme für ihn anzufertigen. Mitte December erkundigte ich mich in der Königl. Klinik nach ihm; sprach ihn selbst; hörte, dass er auch mit frischer Beize gute Resultate erhalten habe; zeigte ihm, da er die Ausstriche noch immer auf Objectträgern machte, welche Unbill man Deckgläsern bieten könne, ehe sie zerbrechen und schied mit der Gewissheit, dass er seine Methode sobald noch nicht veröffentlichen würde, da er über Inserirung der Geisseln arbeitete. Als ich Ende December die Antimonbeize schneller, als ich vermuthete, aufgefunden hatte, habe ich nicht gezögert, mein Verfahren zu veröffentlichen.

Es kommt Hrn. Dr. Welcke nun darauf an, dass ich mich über folgende Punkte zu seinen Gunsten ausspreche, was hiermit geschieht:

1. Dass ich den Anstoss zu meiner Arbeit durch seine Mittheilungen erhalten und mich damals mit Färbung von Geisseln nicht beschäftigt habe.

2. Dass ich ihm keine Mittheilungen über meine Methode gemacht habe.

3. Dass er mir im September eine Methode der Abtödtung von Bakterien behufs Geisselfärbung durch 4 procent. Formalin oder 1 procent. Osmiumsäure mitgetheilt hat.

Ad 1 bemerke ich, dass dieser Punkt aus meinen Mittheilungen S. 97 deutlich hervorgeht. Die Priorität für die Idee: Silber in Bakterien und



ihren Geisseln niederzuschlagen, gebührt v. Ermengem. In seiner Abhandlung spricht er auf S. 7. sich völlig klar darüber aus, indem er sagt, dass seine Methode darin besteht, die organische Materie mit Silber zu imprägniren. Auch dafür gebührt ihm die Priorität, die photographischen Verstärkungsmethoden zur Kräftigung der Geisseln vorgeschlagen zu haben, was ich auf S. 96 meiner Arbeit hervorzuheben vergessen habe. v. Ermengem sagt S. 9: Man kann die Geisseln mit Gold, Quecksilber, Uran, kurz nach einer der vielen in der Photographie gebräuchlichen Verstärkungsmethoden kräftigen. Bei Ausführung seiner Idee hat er allerdings ein Verfahren benutzt, welches in den Händen Anderer Uebelstände zeigt.

Ad 3. Als ich nach Herstellung der Antimonbeize die anaëroben Bakterien, und zwar unter Benutzung einer Bouilloncultur, färben wollte, musste ich nach einem Abtödtungsmittel der Bakterien für solche Culturen suchen. Ich habe die 3 heut zu Tage üblichen zu genaueren Versuchen verwendet, da Chromsäure und Jod sich als unzweckmässig erwiesen; Bouillon, mit einem Ueberschuss von Osmiumsäure, Sublimat und Formalin versetzt, trübt sich auch nach 2 tägigem Stehen nicht, daher verwendete ich diese Mittel zu genaueren, auf S. 100 angedeuteten Versuchen. Hr. Dr. Welcke hat, so viel ich weiss, Formalin aus dem Grunde benutzt, um, da er unter schwierigen Verhältnissen arbeitete, jeder Zeit Bakterien zur Verfügung zu haben, ohne genöthigt zu sein, frische Culturen anzusetzen.

Dies theile ich mit, um unsere verschiedenen Standpunkte zu kennzeichnen, nicht um die Priorität zu beanspruchen.



[Aus dem bakteriolog.-hygienischen Institut der Universität Strassburg.]

Zur Frage der Toxinbildung bei den Milzbrandbakterien.

Von

Heinrich Conradi,
Assistenten am Institut.

Einleitung.

Die Lehre von den giftigen Stoffwechselprodukten der Bakterien hat bereits für die theoretische Begründung der Infectionskrankheiten eine hohe Bedeutung erlangt. Die Kenntniss von giftbildenden Mikroorganismen reicht in die achtziger Jahre zurück, als die Methode der Koch'schen Reincultur einer exacten Untersuchung des bakteriellen Stoffwechsels den Weg wies. Die Entdeckung des Diphtherietoxins durch Roux und Yersin (1888) (1) war der erste Erfolg einer zielbewussten Forschung. Weitere Fortschritte brachten sodann die Arbeiten von Brieger und C. Fränkel (1890) (2), Knud-Faber (1890) (3) und Kitasato (1891) (4), welche die Existenz eines Tetanusgiftes ausser Frage stellten. Löffler (1890) (5) besonders erweiterte dann die Kenntniss von dem Wesen des Diphtherietoxins und in der jüngsten Zeit lieferte van Ermengem (1897) (6) den Nachweis des Bacillus botulinus und seiner Stoffwechselgifte. Auf die Ergebnisse dieser Untersuchungen hin ist es nunmehr gestattet, den Infectionskrankheiten die bakteriellen Intoxicationen gegenüber zu stellen, von den eigentlichen infectiösen die Gruppe der toxischen Mikroorganismen abzugrenzen. Als Repräsentanten der toxischen Gruppe der Bakterien sind Tetanus- und Diphtheriebacillen, sowie der Bacillus botulinus aufzufassen.

Während bei diesen in erster Linie bakterielle, giftige Stoffwechselproducte die Krankheitserscheinungen hervorrufen, ist bei den meisten



infectiösen Bakterien trotz aller Bemühungen die Frage noch nicht hinreichend aufgehellt, ob zu ihrer Pathogenität Stoffwechselgifte beitragen, ob mit der Infection, einer durch rapide Bakterienvermehrung bedingten mechanischen Läsion, eine Intoxication Hand in Hand geht.

So werthvolle Untersuchungen auch vorliegen, für eine grosse Zahl von pathogenen Bakterien ist die Frage nach der Toxinbildung noch offen; das gilt zumal für den Milzbrand.

Schon verhältnissmässig früh hat das Problem der Milzbrandinfection Pathologen und Bakteriologen beschäftigt. Bereits im Jahre 1855 wies Rudolf Virchow (7) auf den septischen Charakter der Milzbranderkrankung hin und führte ihr Entstehen auf ein septisches Ferment zurück. Auch de Bary (1885) (8) zog ein fermentartig wirkendes lösliches Gift zur Erklärung der Milzbrandinfection heran. Seitdem wurde, besonders in den letzten Jahren, der Nachweis von Stoffwechselgiften des Milzbrands in künstlichen Nährlösungen sowohl wie im Thierkörper durch chemische und physikalische Methoden zu führen gesucht. Diese Untersuchungen haben aber weder zu einheitlichen noch leicht zu beurtheilenden Resultaten geführt, wie an der Hand der folgenden Litteraturübersicht gezeigt werden wird.

Historische Uebersicht.

Pasteur (9) nahm im Jahre 1877, sich die Methoden schaffend, Versuche auf, welche in ihrem Princip auf Davaine (10) zurückgehen. Er filtrirte sowohl das Blut von Milzbrandthieren wie Milzbrandculturen durch Thoncylinder und spritzte das keimfreie Filtrat bis zu 80 Tropfen Versuchsthieren ein, ohne irgend welche Giftwirkungen auftreten zu sehen. Hieraus zog Pasteur schon damals die Schlussfolgerung, dass der Milzbrand keine lösliche, giftige Substanz bildet. Während Pasteur bei Anwendung der physikalischen Methode zu negativem Resultate kam, gelangte M. Nencki (1884) (11) auf Grund chemischer Untersuchungen zu dem gleichen Ergebniss. Aus Reinculturen von Anthrax auf Nährpeptongelatine isolirte er einen Eiweisskörper, der in seinem chemischen Verhalten mit Pflanzencaseïnen und thierischen Schleimstoffen Aehnlichkeit besass. Diese Albumose fand sich sowohl in den vegetativen Formen wie in den Sporen. Im Filtrat seiner Culturflüssigkeit waren gleichfalls giftige Substanzen nicht nachweisbar: 5 ^{ccm} des Filtrats, Kaninchen subcutan injicirt, blieben wirkungslos. Nencki's Schüler, A. Dyrmont (1886) (12), untersuchte den Eiweissgehalt der Milzbrandbakterien. Für vegetative Formen stellte er einen Albumosegehalt von 42·5 Procent, für entfettete



Sporen von 77·75 Procent fest. Weiter constatirte er, dass die Milzbrandbakterien aus Kohlehydraten keine Milchsäure zu bilden vermögen.

Tatarski (13) suchte sowohl in Culturen, als auch in den Organen an Milzbrand gefallener Thiere ein Anthraxgift aufzufinden. Seine Experimente jedoch haben der Kritik nicht Stand halten können. Auch die experimentellen Untersuchungen von Osol (1885) (14) seien nur der Vollständigkeit wegen erwähnt, seine Darlegungen wurden durch W. Koch (1886) (15) völlig widerlegt. Die eigenen Versuche von W. Koch gingen von Milzbrandculturen auf neutralisirter Hühnerbouillon aus. Das Filtrat dieser Culturen, in grösseren Mengen Schafen und Kaninchen intravenös injicirt, rief die stärkste Dyspnoe hervor, welche mindestens eine Stunde lang währte und mit einer Temperatursteigerung um 1 bis 2° verbunden war. Eine eigentliche Giftwirkung der Milzbrandbakterien suchte zuerst A. Hoffa (1886) (16), gestützt auf ausgedehnte Untersuchungen, darzuthun. Er cultivirte Milzbrand während mehrerer Wochen bei 37° auf sterilisirtem Fleischbrei und extrahirte aus dieser Cultur nach dem alten Stas-Otto'schen Verfahren der Alkaloiddarstellung und nach einer neuen Methode von E. Fischer — nach L. Brieger (17) ist diese durchaus nicht einwandsfrei — einen alkaloidartigen Körper, das „Anthracin". Dasselbe tödtete Frösche, Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen in Dosen von 1 bis 2 cg binnen einer halben Stunde. Mit dem Brieger'schen Ptomaïnverfahren erhielt Hoffa keine Gifte, ebenso wenig, wenn er Gelatine, Brodinfuse oder Traubenzuckerbouillon als Nährboden verwandte. Schon die damalige Kritik (Baumgarten) (18) betonte, dass durch diese Arbeit der Nachweis eines specifischen Giftstoffes im Thierkörper, eines wirklichen „Anthracin" also, nicht erbracht sei. Eine chemische Darstellung von Milzbrandgiften aus künstlicher Nährlösung setzte sich auch E. Hankin (1889) (19) zum Ziele. Sowohl in der Auswahl der Culturflüssigkeit als auch in der befolgten Methode der Isolirung der Gifte weicht er von dem Hoffa'schen Verfahren ab. Virulenter Milzbrand wurde während einiger Tage in einer Nährlösung von Liebig'schem Fleischextract, zu der Fibrin hinzugefügt wurde, gezüchtet und das Filtrat der Culturflüssigkeit mit Ammoniumsulfat gesättigt. Auf diese Weise erhielt der Autor eine Albumose mit folgenden Eigenschaften: Bei Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen rief sie selbst in grossen Dosen keine Vergiftungserscheinungen hervor, indessen gingen die Versuchsthiere nach gleichzeitiger Injection von Albumose und Milzbrand schneller zu Grunde, als nach gewöhnlicher Milzbrandinfection.

In der Verallgemeinerung dieser Beobachtung kommt Hankin zu dem Schluss, dass auch der inficirte Thierkörper eine Bildungsstätte der Albumose sei, durch diese seine Widerstandsfähigkeit einbüsse und der



Infection die Wege ebene. Diese Behauptung stützt sich aber ausschliesslich auf Untersuchungen an künstlichen Nährlösungen und bleibt somit für den Thierkörper selbst unerwiesen. Räsanzew (20) verdanken wir Untersuchungen über die Veränderung der Blutgase bei der Milzbranderkrankung. Nach ihm erfährt der Sauerstoff des Blutes eine Abnahme um die Hälfte seines Volumens, während Kohlensäure und Stickstoff eine relative Zunahme aufzuweisen haben.

Während in den bisherigen Versuchen nur künstliche Culturflüssigkeit zur Gewinnung von giftigen Stoffwechselproducten herangezogen wurde, schlug S. Martin (1890) (21) einen neuen Weg ein, indem er im Thierkörper die Gifte des Milzbrandes aufzusuchen sich bemühte. Weiterhin versuchte Martin auch aus Culturen giftige Substanzen zu gewinnen. Er lässt Milzbrand 10 bis 15 Tage lang in einer Nährlösung von Alkalialbuminat wachsen. Die Culturen werden durch Chamberland filtrirt, das keimfreie Filtrat bei 37° concentrirt. Durch wiederholte Fällung mit Alkohol isolirte er folgende Substanzen: Proto- und Deuteroalbumose nebst einer Spur von Pepton, ferner ein Alkaloid neben geringen Mengen von Leucin und Tyrosin. Die Albumose wies eine stark alkalische Reaction auf. In kleinen Dosen ruft sie bei Mäusen und Meerschweinen bei subcutaner Injection locales Oedem und Temperatursteigerung, oft auch Milzschwellung hervor, in grösseren — 0·3 grm für eine Maus von 22 grm — äussert sie in mindestens 24 Stunden ihre letale Wirkung. Der alkaloidartige Körper erweist sich etwas giftiger: 0·1 bis 0·15 grm tödten Mäuse von 22 grm in erheblich kürzerer Zeit. Fernerhin verursacht er ausgedehntes, locales Oedem und führt in kurzer Zeit comatöse Zustände herbei, denen 2 bis 3 Stunden nach der Injection der Tod folgt. Chemisch wird das Alkaloid folgendermassen charakterisirt: Es ist in Alkohol, Amylalkohol und Wasser löslich, unlöslich dagegen in Benzin, Chloroform und Aether; seine Reaction ist alkalisch; mit Säuren bildet es gut krystallisirende Salze. Martin vermuthet, dass die Albumose nur eine Vorstufe des Alkaloids darstellt, weil in jungen Culturen hauptsächlich jene, in älteren dieses sich vorfindet. Denselben Substanzen, welche Martin in vitro entdeckte, begegnete er auch im inficirten Thierkörper wieder. Er untersuchte die Organe und das Blut von einem Meerschwein und einem Hammel. Mittels Alkoholfällung extrahirte er aus der Milz und dem ödematösen Gewebe in der Umgebung der Injectionsstelle die Albumosen und das Alkaloid, letzteres auch aus Blut und Milz. Dabei war die Ausbeute grösser als aus den Culturen, in ihrer Wirkungsweise aber standen die isolirten Substanzen sich völlig gleich. Es ist möglich, dass die Albumose, welche Martin auffand, mit der von Hankin beschriebenen identisch war. Die Toxicität der Martin'schen Gifte ist auffallend gering



— fast 14 ^{grm} Albumose pro Kilo Körpergewicht Maus —; nicht viel wirksamer erwies sich das Alkaloid.

Da der Autor hauptsächlich nur an Mäusen experimentirte, so mag er selbst die Giftigkeit der erhaltenen Substanzen überschätzt haben. Gifte von so geringer Intensität aber sind niemals im Stande, den stürmischen Symptomencomplex der Milzbranderkrankung hervorzurufen. Fast gleichzeitig mit der ersten Martin'schen Arbeit erschienen die Untersuchungen von Brieger und C. Fränkel (1890)[1] (2) über Bakteriengifte. In dieser Arbeit haben die Verfasser für Diphtherie-, Tetanus-, Typhus-, Cholerabakterien, Staphylococcus aureus und Milzbrand die Lehre von den Toxalbuminen aufgestellt. Hier wurde der Gedanke ausgesprochen, dass innerhalb des lebenden Körpers die Toxalbumine von den Bakterien aus dem Gewebseiweiss aufgebaut und abgespalten werden, „indem das letztere durch Veränderung seiner Atomgruppen giftige Eigenschaften gewinnt".

Da den Autoren augenblicklich keine grösseren Mengen von Milzbrandculturen zur Verfügung standen, so verwandten sie zu ihren Studien wässerige Auszüge von Milzbrandorganen. Es wurden Leber, Milz, Lungen und Nieren fein zerhackt, mit Wasser zu einem Brei verrieben und die Flüssigkeit nach 12stündigem Stehen im Eisschrank durch Chamberland filtrirt. Das Filtrat wurde dann im Vacuum bei 30° etwa auf $^1/_3$ seines Volumens eingedampft, in die zehnfache Menge absolutesten Alkohols eingetragen und einige Tropfen concentrirter Essigsäure hinzugefügt. Der entstehende Niederschlag wurde hierauf nach 12stündigem Aufenthalt im Eisschrank abfiltrirt, der Rückstand mit wenig Wasser aufgenommen, von Neuem filtrirt, abermals mit Alkohol gefällt, und dieses Verfahren so lange wiederholt, bis die wässerige Lösung ein klares Aussehen zeigte. Durch schliessliche Anwendung der Dialyse erhielt man beim Trocknen im Vacuum bei 40° eine weisslichgraue, durch Alkohol fällbare, in Wasser lösliche Substanz, welche die Eiweissreactionen gab. Erhitzen auf 70° schädigte die Albumose nicht. Im Uebrigen soll sich ihre Toxicität ähnlich verhalten haben, wie die, welche von den Autoren für das Diphtheriegift festgestellt wurde, doch fehlen nähere Angaben. Wassermann und Proskauer (1891) (22) haben die vorgenannten Untersuchungen bei dem Diphtheriebacillus nachgeprüft und für diesen die Resultate bestätigt. Die Angaben von Brieger und C. Fränkel über die Toxalbumine des Milzbrandes haben biher eine Nachprüfung noch nicht erfahren. Aus derselben Zeit stammen einige Versuche von M. Popoff (1890) (23). Er suchte zu ermitteln, ob in einer Kreatincultur von Milzbrand toxische Producte gebildet werden. Verfasser hat seine Milzbrandkreatincultur nach Zusatz eines Tropfens Salz-

[1] A. a. O.



säure drei Tage lang eine halbe Stunde hindurch sterilisirt, hierauf filtrirt und das Filtrat auf dem Wasserbade bis auf geringe Mengen eingeengt. Von dem Rückstande injicirte er 1 ccm einem Kaninchen subcutan, doch traten keinerlei Vergiftungserscheinungen auf. Die Versuche gestatten jedoch wegen ihrer beschränkten Zahl keinerlei Schlüsse.

Cl. Fermi (1890) (24) veröffentlichte dann seine umfangreichen Untersuchungen über fibrin- und leimlösende, sowie diastatische Fermente der Bakterien. Auch bei dem Milzbrand konnte ihre Bildung festgestellt werden, beim Zustandekommen der Infection aber spielen sie keine active Rolle.

Grössere Bedeutung für die vorliegende Frage haben die Ergebnisse von Balp und Carbone (1891) (25), welche in einem Fall von letalem Anthrax bei einem Gerber giftige Substanzen aus den Organen darzustellen suchten. Sie verwandten das ödematöse Gewebe des Halses und des Rumpfes, sowie die Leber zu ihren Untersuchungen, allein weder mit der Brieger'schen, noch mit anderen Methoden erhielten sie eine toxische Base. Hingegen fanden sie einen Eiweisskörper von geringer Toxicität, der erst in einer Minimaldosis von 0·15 grm bei einer Maus von 25 grm den Tod des Versuchsthieres herbeiführte.

In ähnlicher Richtung bewegten sich auch die Versuche von L. Landi (1891) (26). Er isolirte aus dem Blute und den Organen seiner Versuchsthiere einen Eiweisskörper, der nur geringe toxische Eigenschaften besass: Von 22 Thieren (Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen), denen selbst hohe Dosen der Albumose einverleibt wurden, starben 12 erst lange Zeit nach der Injection, 10 blieben am Leben. Auch in Milzbrandculturen suchte Landi giftigen Substanzen nachzuspüren; er stellte zwar wieder einen Eiweisskörper dar, aber dieser wies keinerlei toxische Eigenschaften auf. G. Klemperer (1891) (27) gewann aus gekochten Milzbrandculturen ein Proteïn, welches bei Versuchsthieren Temperatursteigerung hervorrief. Maltzew (1891) (28) stellte folgende Experimente an: Wenn er Kaninchen 0·2 bis 7 ccm Filtrat einer Bouilloncultur unter die Haut spritzte, so boten diese keinerlei Erscheinungen dar. Impfte er aber die mit Filtrat vorbehandelten Versuchsthiere nach Ablauf von 10 bis 18 Tagen mit Milzbrand, so gingen sie schneller zu Grunde als die Controlthiere. Diese Beobachtung Maltzew's wie die früher mitgetheilten Hankin'schen Versuche liessen die Hypothese zu, dass der Milzbrand in künstlichen Nährlösungen Stoffe erzeuge, welche die Infection begünstigen. M. Petermann (1892) (29) indessen unterzog die Untersuchungen Hankin's einer sorgfältigen Nachprüfung und gelangte zu völlig entgegengesetzten Resultaten. Selbst nach Injection grösserer Dosen der dargestellten Albumose



war er nicht in der Lage, bei Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen irgend eine toxische oder zur Infection disponirende Wirkung hervorzurufen. Der einzige Effect war eine Temperatursteigerung um 1 bis 2°. Gleichfalls negative Resultate erhielt Petermann, als er asporogene Culturen zur Untersuchung heranzog.

Gegen diese Schlussfolgerung polemisirten Hankin und F. Wesbrook (1892) (30). Ihre Ausführungen gipfeln darin, dass Petermann andere Ergebnisse erhalten musste, weil er seine Culturen bei zu hoher Temperatur angelegt habe. Nur bei niedriger Temperatur, bei 20° etwa, sei man im Stande, die von Hankin beschriebene Albumose mit ihren prädisponirenden Eigenschaften aufzufinden. Weiterhin wird eine neue Methode zur Darstellung der Albumose mitgetheilt: Als Culturflüssigkeit diente eine reine Peptonlösung, nach einer Woche wurde die Milzbrandpeptoncultur filtrirt, mit Ammoniumsulfat versetzt, centrifugirt, dialysirt und durch Alkohol gefällt. So erhielt man eine in Wasser wenig lösliche Albumose, welche selbst in höchsten Dosen bei Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen eine Giftwirkung nicht auslöste. Hingegen erwies sich die Albumose bei erwachsenen Ratten, bei Fröschen und Krebsen in mehr minder intensiver Weise giftig: Erwachsene Ratten zeigten nach subcutaner Injection von 2 bis 3·5 ^{grm} der Albumose eine vorübergehende Verlangsamung der Respiration, sowie Schwäche der Extremitäten, erholten sich aber wieder nach einiger Zeit. Somit tritt die allerdings geringe Toxicität der Albumose nur bei Thieren auf, welche sich gegen Milzbrand refractär verhalten. Diese Giftempfindlichkeit bei bestehender Immunität gegenüber Infection ist nicht häufig, sie muss aber als Thatsache anerkannt werden, seitdem Vaillard (31) zeigte, dass Kaninchen und Meerschweinchen gegenüber dem Tetanusbacillus immun, für das Tetanustoxin empfindlich sind.

Um in der Litteraturübersicht fortzufahren, sei der Versuche von Sanarelli (1893) (32) gedacht, welche die Schlussfolgerung zulassen, dass der Milzbrand im Thierkörper keine löslichen dialysiblen Gifte erzeugt. Kaninchen wurden Collodiumsäcke, mit Milzbrand gefüllt, unter die Haut gebracht und, obschon die Milzbrandbacillen erst nach 20 bis 27 Tagen abstarben, — Pekelharing (33) beobachtete ein früheres Zugrundegehen —, trat keine Giftwirkung auf. Iwanow (1892) (34) constatirte, dass Milzbrandbakterien, auf Milch cultivirt, flüchtige Fettsäuren, nämlich Ameisensäure, Essigsäure und Capronsäure bilden. Diese Fettsäuren stellen zwar Producte der vitalen, bakteriellen Thätigkeit dar, für die Pathologie des Milzbrandes jedoch sind sie ohne Bedeutung. Dasselbe gilt von dem von Maumus (1893) (35) beschriebenen Zucker bildenden Ferment, ferner von dem labartigen Ferment von Roger (1893) (36).



Etwas grössere Wichtigkeit heansprucht die von Petri und Maassen (1893) (37) gefundene Thatsache, dass nämlich der Milzbrand auf geeignetem Nährboden Schwefelwasserstoff bildet. Nachdem sie den Milzbrand in 10procentiger Peptonlösung bei 37° cultivirt hatten, fanden sie schon nach 18 Stunden Bleipapier geschwärzt vor. Die spektroskopische Untersuchung des Milzbrandblutes fiel negativ aus. Die Verfasser betonen ausdrücklich, dass es ihnen ferne liegt, dem Schwefelwasserstoff eine hervorragende Rolle bei der Infection zuzuschreiben. Dazu liegt um so weniger Grund vor, als die Schwefelwasserstoffbildung nicht für Milzbrand specifisch ist, vielmehr nach den vorliegenden Untersuchungen den meisten pathogenen Bakterien zukommt. Den chemischen Nachweis von Toxinen verfolgten auch Heim und Geyger (1894) (38). Ihre Versuche gestatten jedoch keine Schlussfolgerung und werden nur der befolgten Methode wegen angeführt. Die Milzbrandbakterien wurden in Hühnereiern gezüchtet. Der alkoholische Auszug wird mit Sublimatlösung versetzt, filtrirt, das Filtrat mit Platinchloridlösung behandelt, der entstehende Niederschlag mit Schwefelwasserstoff zerlegt, filtrirt und die mit Kalilauge versetzte Lösung theils mit Aether, theils mit Benzol ausgeschüttelt. Der Rückstand wird mit Wasser aufgenommen. Der Benzolrückstand tödtet in einer Dosis von 0·5 ccm eine Maus in 10 Minuten, der Aetherrückstand erst in einer Dosis von 1 ccm und erst nach $2^1/_4$ Stunden.

Die noch wenig untersuchten intracellulären Bakteriengifte nahm E. Klein (1894) (39) zum Gegenstand seiner Arbeit. Es wurden 48stündige Agarculturen in je 5 ccm Bouillon vertheilt, die Bakterien und Sporen durch 5 Minuten währenden Aufenthalt in kochendem Wasser abgetödtet. Meerschweinchen erhielten $^2/_3$ der Cultur intraperitoneal injicirt, ohne jeden Nachtheil. Aus diesen Versuchen zieht Klein die Folgerung, dass der Milzbrand kein intracelluläres Gift in sich aufspeichert. Von Interesse sind die Untersuchungen von Bianchi-Mariotti (1894) (40), welche die Wirkung der löslichen Bakterienproducte auf die Isotonie und den Hämoglobingehalt des Blutes studirten. Die Verfasser haben Milzbrandculturen durch Chamberland filtrirt und beobachtet, dass die intravenöse Injection des Filtrats in kleinen oder mittleren Dosen das isotonische Vermögen des Kaninchenblutes erhöht, in grossen Gaben jedoch vermindert. Ferner konnte festgestellt werden, dass die Hämoglobinmenge nach der Injection des Filtrats eine Abnahme erfährt, welche der injicirten Dosis direct protortional zu sein scheint.

Die letztere grössere Arbeit stammt von L. Marmier (1895) (41), der mit Aufbietung zahlreicher Methoden die endgültige Lösung der Toxinfrage herbeizuführen trachtete. Wie weit ihm das gelungen, wird aus

dem Resumé seiner Untersuchungen hervorgehen. Marmier hat den Milzbrand in Pepton-Glycerinlösung bei 20 und 37° gezüchtet; der niedrigere Temperaturgrad jedoch erwies sich, wie schon Hankin und Wesbrook beobachtet hatten, für die Giftbildung bedeutend günstiger. Die filtrirte Culturflüssigkeit ward mit Ammoniumsulfat gesättigt und der entstandene Niederschlag mit kleinen Mengen von Glycerin extrahirt. Die nun in Lösung gehenden Substanzen werden mit der vierfachen Menge absoluten Alkohols gefällt, der Niederschlag mit Alkohol und Aether gewaschen und im Vacuum getrocknet. Die so dargestellte Substanz ist in Wasser löslich, unlöslich in Chloroform. Erhitzen auf 110° schwächt die Substanz in ihrer toxischen Wirkung ab, Chlorkalk zerstört sie gänzlich. Die Eiweiss-, Pepton- und Alkaloidreactionen fielen negativ aus. Demnach ist über ihre chemische Zugehörigkeit nicht viel bekannt. Nicht viel besser steht es um die Feststellung ihrer Toxicität, die letale Dosis liefert keine constante Grösse, — für Kaninchen beträgt sie bis zu 2 ^{dcg} pro Kilo Körpergewicht —, dieselbe Inconstanz treffen wir bei der Lebensdauer der injicirten Thiere, sie variirt zwischen 24 Stunden und 19 Tagen! Mit diesen Angaben steht die klinische Beobachtung der Milzbrandinfection in Widerspruch, selbst bei langsamem Verlauf tritt der Tod spätestens nach 3 bis 7 Tagen ein (Schneidemühl (42), Friedberger und Fröhner (43)). Ueberhaupt fehlt jede Relation zwischen letaler Dosis, Lebensdauer und Körpergewicht des Versuchsthieres. Die unmittelbare Wirkung des Toxins äussert sich in Temperatursteigerung, Diarrhöe und zunehmender Abmagerung. Einige Zeit vor dem Tode tritt Paraplegie und Paranästhesie auf, dann Verlangsamung der Respiration, Dilatation der Pupillen, Athmung und Herzschlag werden unregelmässig, und unter Streckkrämpfen stirbt das Thier unter dem Symptomenbild der Asphyxie. Die Section ergab stets allgemeine Kachexie. Die gegen Milzbrand refractären Thiere, wie Hühner, Fische und Frösche, zeigten sich auch für das Toxin wenig empfänglich. Damit wird also der früheren Beobachtung von Hankin und Wesbrook widersprochen. Auch aus Kartoffelculturen gewann Marmier durch einen eigenthümlichen Extractionsprocess mit 42procentigem Alkohol seine giftigen Substanzen. Filtrate von Milzbrandculturen hingegen, welche er in Rinder-, Pferde- und Kalbsblutserum angelegt hatte, waren ohne toxische Eigenschaften. Später wird sich Gelegenheit bieten, auf die Methode, mittels welcher Marmier aus Kartoffelculturen seine Toxine erhielt, näher einzugehen.

In den letzten Jahren scheint das Interesse an dem Gegenstand erlahmt zu sein. Bis in die letzte Zeit hinein begegnet mir nur die Arbeit von M. Hahn (1897) (44), welcher, an die Erfindung der E. Buchner'schen



Presssaftmethode anknüpfend, diese für den Milzbrand heranzieht. Nachdem Hahn Milzbrandculturen ausgepresst und den Presssaft zur Entfernung der Bakterien durch Chamberland filtrirt hatte, spritzte er das Filtrat Meerschweinen ein, um sie gegen Milzbrand zu immunisiren, allerdings ohne Erfolg.

Der vorausgegangene Ueberblick über die Litteratur legt davon Zeugniss ab, in wie zahlreichen Widersprüchen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeiten sich bewegen. Es ist nun unsere Aufgabe, den Gründen nachzuforschen, welche die Einheitlichkeit der vorliegenden Resultate trüben. Die Mehrzahl der Autoren hat zur Darstellung von Toxinen Methoden befolgt, welche so geringfügige Unterschiede unter einander aufweisen, dass diese nicht den Grund für die entgegengesetzten Untersuchungsresultate abgeben können. Wohl aber haben die Autoren die allerverschiedensten Nährsubstrate zum Ausgangspunkt ihrer Versuche herangezogen. So ist wohl die Schlussfolgerung gerechtfertigt, dass in diesem Factor der Gegensatz der Anschauungen seine Erklärung findet. Von der Zusammensetzung des Nährbodens ist die Bildung der bakteriellen Stoffwechselproducte abhängig. Vielleicht gelingt es, aus dieser Erkenntniss heraus einen neuen Gesichtspunkt in die Fragezu bringen.

Bei der bisherigen Erörterung war der Uebersichtlichkeit wegen eines Punktes nicht Erwähnung geschehen, der jetzt in Kürze abgehandelt werden soll, ich meine die Untersuchung über die pyrogenen Substanzen des Milzbrandes. Diese müssen hier ihre Besprechung finden, weil sie nach verbreiteter Ansicht dem bakteriellen Stoffwechsel ihren Ursprung verdanken sollen. Die zahlreichen Versuche, welche sowohl mit den Milzbrandbacillen selbst wie mit den aus ihnen dargestellten Giften ausgeführt sind, ferner die klinischen Beobachtungen bei der Anthraxinfection von Menschen und Thieren lassen die Schlussfolgerung zu, dass in den meisten Fällen sich eine Temperaturstörung von wechselnder Höhe einstellt.

Die sorgfältigen Versuche von Krehl (1895) (45) über die Erzeugung von Fieber bringen auch für den Milzbrand einige experimentelle Beiträge; der dort mitgetheilten, ausführlichen Zusammenstellung der Litteratur sind die Arbeiten folgender Autoren nachzutragen: Pasteur (46), W. Koch, Hoffa, Petermann, Marmier und Löwith (47). Erwähnt seien noch die klinischen Beobachtungen von Lodge (48), aus denen hervorgeht, dass die Milzbrandinfection des Menschen nicht stets mit Fieber verbunden ist. Die Frage nach den pyrogenen Stoffen spitzt sich nun so zu: Sind es die Bakterien selbst, welche die Temperaturerhöhung erzeugen, oder die von ihnen gebildeten toxischen Substanzen? Für die letztere Annahme können die allerdings anfechtbaren Angaben



von Hoffa, Martin und Marmier angeführt werden, welche specifische, giftige Stoffwechselproducte mit fieberauslösenden Eigenschaften darstellten. Noch eine andere Möglichkeit ist zuzugeben. Die fiebererzeugende Substanz ist nicht specifisch, sie kommt vielmehr den Bakterienleibern als solchen zu, diese Anschauung wurde durch Buchner begründet; nach ihm ist eine Eiweisssubstanz der Bakterienzelle das fieberauslösende Moment, dieser Stoff wird entweder von den Bakterien abgesondert oder tritt bei ihrem Zerfall in den Thierkörper über. Eine ähnliche Auffassung wurde schon durch Charrin (49) vertreten, nach ihm speichert die Bakterienzelle, wie überhaupt das Protoplasma jeder lebenden Zelle, fiebererzeugende Substanzen auf. Endlich ist noch ein Erklärungsversuch heranzuziehen, der lediglich in der Zersetzung der Körperbestandtheile in Folge der bakteriellen Invasion den Grund für die Temperaturerhöhung sucht. Dieser Auffassung zufolge stellt sich bei der Milzbrandinfection ein Resorptionsfieber im Sinne von von Recklinghausen (50) ein. Eine allgemein befriedigende Erklärung liegt zur Zeit noch nicht vor, und ehe nicht in einwandsfreier Weise Gifte des Milzbrandes aufgefunden sind, verlohnt es sich nicht der Mühe, in eine weitere Discussion über pyrogene Substanzen des Milzbrandes einzutreten.

Eigene Untersuchungen.

Die vorstehenden Resultate der Autoren, welche die verschiedensten, künstlichen Nährsubstrate zu ihren Toxinuntersuchungen herangezogen hatten, dienten mir zur Warnung, die Culturen zum Ausgangspunkt meiner Versuche zu nehmen. So stand nur der Weg offen, auf den Thierkörper selbst zurückzugehen und aus ihm die Producte des Stoffwechsels zu isoliren. Damit waren Bedingungen hergestellt, welche ausserhalb des lebenden Organismus überhaupt nicht wahrzunehmen sind. Das war kein neues Prinzip, schon Brieger und C. Fränkel, Martin, ferner Landi schlugen dieses Verfahren ein, allein die geringe Zahl der angestellten Versuche wie der befolgten Methoden erlauben nicht, aus ihren Experimenten endgültige Schlüsse zu ziehen. Doch gebührt ihnen das Verdienst, zuerst diesen Weg zur Entscheidung der Frage aufgesucht zu haben.

Bei meiner Arbeit, welche ich auf Anregung meines verehrten Lehrers, Hrn. Prof. E. Levy, ausführte, ging ich von mehreren Milzbrandstämmen aus, die sämmtlich eine hohe Virulenz besassen. In ganz geringen Mengen schon unterlagen Mäuse nach 24 Stunden, Meerschweinchen und Kaninchen nach 24 bis 30 Stunden der Infection. Durch fort-



gesetzte Thierpassagen gelang es, den Milzbrand längere Zeit hindurch auf derselben Virulenzhöhe zu erhalten. In der vorausgeschickten Litteraturübersicht war schon auf die Beobachtung von Hankin und Wesbrook hingewiesen worden, dass nämlich gegen Milzbrand refractäre Thiere sich für seine Toxine ganz besonders empfänglich erwiesen; es war ferner betont worden, dass Marmier zu entgegengesetztem Resultate kam. Diese Mittheilungen schienen einer Nachprüfung zu bedürfen, und so verwandte ich bei jeder Versuchsreihe ausser Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen auch die für Milzbrand unempfänglichen erwachsenen Ratten, in einigen Fällen auch Hunde. Zunächst setzte ich mir die Aufgabe, an die Untersuchung der löslichen Stoffwechselprodukte des Milzbrandes heranzugehen.

I. Ueber lösliche Stoffwechselprodukte des Milzbrandes.

Roux und Chamberland (51) erbrachten den Beweis, dass der Bacillus des malignen Oedems im thierischen Organismus giftige Stoffwechselproducte erzeugt, welche im Thierexperiment ihrerseits genau denselben Symptomencomplex hervorrufen, wie die Infection mit den lebenden Bacillen selbst. Der Gewebssaft sowohl, wie das Exsudat, welches an der Injectionsstelle bei Meerschweinchen nach Einverleibung der Oedembacillen sich ausbildet, wurde durch Chamberland filtrirt und das Filtrat Meerschweinchen in grosen Dosen bis zu 20 ccm eingespritzt. Die Versuchsthiere boten darnach genau das Krankheitsbild des malignen Oedems und gingen nach mehreren Stunden zu Grunde. In einer weiteren Arbeit zeigte dann Roux (52), dass der filtrirte Muskelsaft von an Rauschbrand zu Grunde gegangenen Thieren krankheitsbedingende Eigenschaften aufweist. Die Dosis von 20 ccm Filtrat, intraperitoneal injicirt, hatte zwar nicht den Tod der Meerschweinchen zur Folge, wohl aber traten deutliche Symptome schwerer Erkrankung auf. Rauschbrand und malignes Oedem besitzen nun mit dem Milzbrand mancherlei gemeinsame Berührungspunkte. Es schien daher nicht aussichtslos, zu prüfen, ob die Versuchsanordnung der beiden Schüler von Pasteur, auf den Milzbrand angewandt, gleichfalls brauchbare Resultate zeitigt. Ehe man aber an diese Untersuchung heranging, war die Frage vorher zu berücksichtigen, ob man bei der Milzbrandinjection Exsudat und seröse Flüssigkeit, kurz, Material genug erhält, um derartige Filtrationsversuche anzustellen. Einschlägige Versuche hatten nun das Ergebniss, dass nach intraperitonealer Injection von Milzbrand Meerschweinchen ein ziemlich reichliches, blutigseröses Exsudat, geringe Mengen Fibrinflocken enthaltend, in Peritoneal- und Pleurahöhle bei der Autopsie aufweisen. Uebrigens hat vor einer Reihe von Jahren Metschnikoff (53) auf das Vorkommen dieser Exsudate

die Aufmerksamkeit gelenkt. In der serösen Flüssigkeit wimmelt es geradezu von Milzbrandbakterien, bei der mikroskopischen Untersuchung zeigt jedes Gesichtsfeld mindestens 10 bis 20 bald sich zu mehreren Gliedern vereinigende, bald auch isolirt liegende Kapselbakterien, häufig genug sind auch lange Ketten von 15 bis 20 Gliedern wahrzunehmen. Nur selten konnten Degenerationserscheinungen beobachtet werden. Die Virulenz der Exsudatbakterien unterscheidet sich nicht im Mindesten von den aus Leber und Milz cultivirten. Impft man mit ganz geringen Mengen Meerschweinchenexsudates Mäuse, Meerschweinchen oder Kaninchen, so sterben diese nach Ablauf von höchstens 30 Stunden. Die Menge der injicirten Milzbrandbacillen steht in keiner Proportion zu der Menge des erhaltenen Exsudates. Individuelle Schwankungen spielten dabei eine gewichtige Rolle, nur bei manchen Arten von Meerschweinchen ist man in der Lage, reichliches Exsudat aufzusammeln. Die durchschnittliche Ausbeute bei einem Meerschweinchen von 250 ^{gr} beträgt nach intraperitonealer Injection ca. 10 bis 15 ^{ccm}. Bei Kaninchen, die für Milzbrand weniger empfänglich sind, gelingt es weder leicht noch regelmässig, durch Einspritzen von Milzbrand in die Bauchhöhle derartige Exsudate zu erzielen. Im Verlauf der Untersuchung wurden stets Meerschweinchenexsudate zur Infection der Versuchsthiere herangezogen, um nach Möglichkeit die Anwendung von Milzbrandculturen auszuschliessen. Zum Sammeln der Exsudate aus Brust- und Bauchhöhle diente eine sterilisirte Pravaz'sche Spritze ohne Canüle. Es stellte sich als nöthig heraus, die Section, sowie die Entnahme der serösen Flüssigkeit unmittelbar nach dem Tode des Thieres vorzunehmen, weil bei längerem Liegen, auch auf Eis, die Exsudate durch Proteus sowohl, wie E. Levy (54) gezeigt hat, als auch durch Bacterium coli commune verunreinigt werden können. Während die Untersuchungen von Fodor (55), Nuttall (56), Nissen (57), Buchner (58), R. Stern (59) die bakterienfeindlichen Eigenschaften aller Körpersäfte dargethan hatten, ging aus den Versuchen von Lubarsch (60), ferner von Metschnikoff (61) hervor, dass die Bakterien in den Körperflüssigkeiten ausserhalb des Organismus viel schneller und leichter absterben, als innerhalb des Körpers. Angesichts dieser Thatsache schien es erforderlich, die Exsudate sofort nach ihrer Entnahme aus dem Thierkörper weiter zu verarbeiten, weil sonst leicht anormale Bedingungen sich herstellen konnten. Die Versuche wurden nun in der folgenden Weise ausgeführt: Um die Exsudate zu filtriren und die Trennung der Bakterienkeime von ihren löslichen Stoffwechselproducten herbeizuführen, kamen zwei Methoden in Betracht, der Kitasatofilter und der Chamberlandkerze; beide Verfahren wurden zur Anwendung herangezogen. Die Filtration durch den Kitasatofilter geht nur langsam



vor sich, und es wurden deswegen mehrere Kerzen in Betrieb gesetzt. Zunächst erhielten sechs Meerschweinchen gleichzeitig geringe Mengen von Milzbrand in die Bauchhöhle injicirt; dieselben liessen aus Brust- und Bauchhöhle im Ganzen 80 ccm Exsudat gewinnen. Diese Menge ward sofort durch Kitasato filtrirt. Die Keimfreiheit des filtrirten Exsudates wurde durch angelegte Bouillonculturen, sowie Deckglaspräparate controlirt. Dann wurden die Filtrate sogleich Mäusen, Ratten, Meerschweinchen und Kaninchen in aussergewöhnlich hohen Dosen theils subcutan, theils intraperitoneal, theils intravenös injicirt. Der Einverleibung folgten indessen keinerlei Erscheinungen nach. Noch sei ausdrücklich betont, dass die Versuchsthiere in diesen, wie in den folgenden Versuchen mindestens zwei Monate nach der Injection weiter beobachtet wurden. Die näheren Details der Versuche ergeben sich aus der nachfolgenden Tabelle I.

Tabelle I.

Meerschweinchen-Exsudat durch Kitasato filtrirt.

Versuchsthier	Körper-gewicht grm	Injectionsmenge absolute ccm	Injectionsmenge relative [1] ccm	Injectionsart	Weiterer Verlauf
Maus I . . .	16	2	125	subcutan	Normales Verhalten
„ II . .	20	3	150	„	„
„ III . .	21	4	190	„	„
Ratte I . . .	82	5	61	„	„
„ II . .	95	7	74	„	„
Meerschw. I .	160	4	25	intraperitoneal	„
„ II	250	5	20	„	„
„ III	380	7	18	subcutan	„
Kaninchen I	1002	10	10	intravenös	„
„ II	1600	11	7	subcutan	„
„ III	1515	12	8	„	„

Um die durch Kitasato erhaltenen Resultate noch einer Nachprüfung zu unterziehen, fand eine Wiederholung der Exsudatversuche statt, nur wurden diesmal die Bakterien durch Chamberlandfilter getrennt. Dabei machte ich mir den von Sirotinin (62) gegebenen Rath zu Nutze, bei der Filtration durch Chamberland die zuerst erhaltenen Mengen nicht zu verarbeiten, weil diese sich gewöhnlich als ungiftig herausstellten. Die intraperitoneale Injection von je sechs Meerschweinchen mit geringen Mengen Milzbrands lieferte aus Brust- und Bauchhöhle im Ganzen 150 ccm

[1] Unter relativer Injectionsmenge verstehe ich die auf das Kilo Körpergewicht berechnete Menge.

Milzbrandexsudat. Sofort nach ihrer Entnahme wurden die Exsudate durch Chamberland bei 3 bis 4 Atmosphärendruck hindurchfiltrirt und in kurzer Zeit stand ein klares Filtrat für die sogleich nachfolgende Injection zur Verfügung. Die Feststellung der Keimfreiheit des Filtrates fand in der bereits beschriebenen Weise statt. Das folgende Versuchsprotocoll giebt eine Bestätigung der Kitasatoversuche und ausserdem die Gewissheit, dass mit den befolgten Methoden giftige, lösliche Stoffwechselprodukte in den Exsudaten nicht aufgefunden werden konnten.

Tabelle II.

Meerschweinchen-Exsudat durch Chamberland filtrirt.

Versuchsthier	Körpergewicht grm	Injectionsmenge		Injectionsart	Weiterer Verlauf
		absolute ccm	relative ccm		
Maus I . . .	18	2	111	subcutan	vollkommen normal
„ II . .	20	3	150	„	„
„ III . .	21	4	190	„	„
Ratte I . . .	81	5	62	„	„
„ II . .	115	10	87	„	„
„ III . .	125	12	96	„	„
Meerschw. I .	550	15	27	„	„
„ II	708	10	14	intraperitoneal	„
„ III	160	4	25	„	„
Kaninchen I	1100	10	9	intravenös	„
„ II	1250	12	10	subcutan	„
„ III	1620	20	12	„	„
Hund . . .	7000	25	4	„	„

Aus den Exsudaten konnten also keine löslichen Stoffwechselprodukte isolirt werden. Jetzt war der aussichtsvolle Versuch in Angriff zu nehmen, aus den Organen der Milzbrandthiere Toxine zu erhalten. Das war auch das bewährte Verfahren, welches Brieger und C. Fränkel, sowie Martin eingeschlagen haben, welches den Ausgangspunkt für ihre weiteren, chemischen Methoden bildete: aus den Organaufschwemmungen stellten sie ihre Gifte dar. Ehe man die chemische Darstellung in's Auge fasste, war erst festzustellen, ob die Filtrate der Organaufschwemmungen an sich toxisch wirken. Für die Verarbeitung der Organe kamen Leber und Milz in Betracht; denn gerade diese Organe stellen einen Filter für den Organismus dar, durch welchen die im Thierkörper kreisenden Bakterien hindurchgehen müssen. Dabei werden noch am ehesten ihre schädlichen Stoffwechselprodukte zurückgehalten und abgelagert, wie wir



aus dem analogen Vorgang bei Alkaloiden schliessen dürfen. Noch waren Nachforschungen darüber anzustellen, ob die normalen Organextracte an sich Eigengifte besitzen. Hierüber liegen Versuche von Foa und Pellacani (63), Royer (64), Mairet-Vires (65) und A. Marie (66) vor, welche eine ausserordentlich geringe Toxicität normaler, thierischer Organextracte feststellen konnten. Auch ist es ganz und gar noch unentschieden, ob es sich dabei um eine wirkliche Giftwirkung oder um eine Coagulationswirkung der injicirten Organe handelt. Für unsere Versuche jedenfalls ist diese geringe Toxicität bedeutungslos. Die Herstellung der Organaufschwemmungen ging nun in folgender Weise vor sich. Es erhielten mehrere Meerschweinchen geringe Mengen Exsudates subcutan injicirt. Unmittelbar nach ihrem Tode werden Leber und Milz in sterile Mörser mit sterilen Granitstand in wenig physiologischer Kochsalzlösung zerrieben, und zu dem dünnflüssigen Brei fügt man eine geringe Menge physiologischer Kochsalzlösung hinzu. Diese Aufschwemmung kommt sofort in dem Chamberand und wird bei 4 Atmosphärendruck hindurchfiltrirt. Erst wenn die bernsteingelbe Farbe der Flüssigkeit in ein Dunkelroth übergegangen war und so die stärkere Concentration anzeigte, wurde das Filtrat zur sofortigen Injection verwandt. Die Resultate dieser Versuche ergaben die völlige Uebereinstimmung mit den vorigen Experimenten, wie aus dem folgenden Versuchsprotocolle hervorgeht.

Tabelle III.

Organfiltrate durch Chamberland filtrirt.

Versuchsthier	Körpergewicht grm	Injectionsmenge absolute ccm	Injectionsmenge relative ccm	Injectionsart	Weiterer Verlauf
Maus I . . .	19	2	105	subcutan	vollkommen normal
„ II . .	18	3	167	„	„
„ III . .	16	3	187	„	„
„ IV . .	21	4	190	„	„
„ V . .	15	4	267	„	„
Ratte I . . .	130	5	38	„	„
„ II . .	90	6	67	„	„
„ III . .	112	8	71	„	„
Meerschw. I .	260	5	19	intraperitoneal	„
„ II	252	10	40	„	„
„ III	560	15	27	subcutan	„
Kaninchen I	1348	20	15	„	„
„ II	1958	15	8	„	„
„ III	1540	10	6	intravenös	„



Der französischen Schule, vor allem Metschnikoff und Roux, verdanken wir den Besitz von Methoden, welche eine Trennung der Bakterien von ihren Stoffwechselprodukten im Thierkörper selbst herbeiführen, die dialysiblen Membranen. . Die Vortheile dieser Verfahren sind unverkennbar. Einmal werden durch sie Bedingungen hergestellt, welche der natürlichen, bakteriellen Intoxication sehr nahe kommen, zu zweit veranlasst das Verweilen der Membranen im thierischen Organismus die Bakterien zur höchsten Virulenzentfaltung. Im Pasteur'schen Institut hat sich die Anwendung dieser Membranen zur Virulenzerhöhung fest eingebürgert (vgl. Metschnikoff (67), ferner Vincent (68)). Am meisten in Ansehen stehen die Collodiumsäckchen. Die Herstellung derselben ist jedoch mit einigen Schwierigkeiten verbunden. Mit grösserem Vortheile wandte ich ein anderes Verfahren an, welches zur Toxinuntersuchung bisher noch nicht herangezogen wurde, die Dialysation durch Schilfsäcke. Schon im Jahre 1887 hat Metschnikoff (69), auf den Rath des Petersburger Botanikers Kroutizine, mit Schildcylindern seine Studien über das Wachsthum von Milzbrandsporen im Thierkörper angestellt. Nachdem er in die Schilfsäckchen Seidenfäden mit Milzbrandsporen gebracht hatte, führte er sie Fröschen unter die Haut ein. Er war dann in der Lage, üppiges Wachsthum des Milzbrands zu constatiren.

Neuerdings verwandte Podbelsky (70) unter Leitung von Metschnikoff die Schilfcylinder zu Untersuchungen über die Sporenbildung bei dem Bacillus subtilis im Thierkörper. In dieser Arbeit ist auch die Anfertigung der Säckchen mitgetheilt. Durch diese Versuche angeregt, ging ich daran, die Methode für meine Zwecke zu modificiren. Dicke Schilfrohre (Phragmites communis) werden in ihre Segmente zertheilt, diese $^1/_4$ Stunde lang in Wasser gekocht. Das eine Segmentende wird dann mit scharfem Messer vorsichtig bis auf die innerste Membran ca. 2 cm breit ringsum abgeschält und die blossgelegte Membran mit Seide fest zugebunden. An dies zugebundene Ende legt man einen dünnen, polirten Stab mit abgerundeten Enden an und bewegt ihn mit leisem Druck in der Richtung des Rohres. So löst sich schliesslich die innere Haut ab, und der vorwärts geschobene Stab stülpt sie vor sich her. Liegt die Membran in ihrer ganzen Ausdehnung vor, so wird der Stab herausgezogen. In das offene Ende des Säckchens führt man jetzt ein kleines, unten abgerundetes, oben mit Watte verschlossenes Glasrohr ein und befestigt dasselbe mit Seide an der Wand des Säckchens. Letzteres wird hierauf unter Wasser auf seine Dichte geprüft, dann 3 Stunden lang im strömenden Dampf sterilisirt. Nun werden die Säckchen unter aseptischen Cautelen weiter behandelt. Nachdem noch das untere Ende mit Collodium gedichtet wurde, füllt man durch das Glasrohr mit einer sterilen Pravaz'schen Spritze Bouillon ein, aber nicht bis zur vollen Füllung des



Säckchens. Dann nimmt man mittels Platinöse die Ueberimpfung des Milzbrands vor. Hierauf wird das Säckchen dicht unterhalb des Glasrohres mit Seide zugebunden und am oberen Ende aussen mit Collodium gedichtet. Nach Abspülung mit steriler physiologischer Kochsalzlösung werden die Säckchen in Reagensgläser gebracht, in welchen sich 5 bis 6 ccm Bouillon befindet, und in den Brütschrank bei 20° gestellt. Diejenigen Säckchen, welche nach 48 Stunden in der umgebenden Bouillon eine Entwickelung aufweisen, werden ausgeschaltet. Die übrigen, dichten, welche jetzt eine 48stündige Milzbrandcultur enthalten — in einigen Fällen zwei Säckchen zugleich — werden alsbald den Versuchsthieren mittels Laparotomie unter Aethernarkose in die Bauchhöhle eingebracht. Hier werden die Säckchen möglichst unter die Därme gelagert, um sie der Wirkung der Bauchpresse zu entziehen. Da die Wahrscheinlichkeit bestand, dass innerhalb 48 Stunden lösliche Stoffwechselprodukte des Milzbrands in die umgebende Bouillon bereits diffundirt waren, so wurde auch diese stets den Versuchsthieren in die Bauchhöhle eingegossen. Bei einer Reihe von Versuchen füllte ich auch Milzbrandexsudate in die Säckchen ein und verarbeitete sie weiter in der zuvor beschriebenen Weise. Endlich wurden auch in einer Anzahl von Experimenten die Schilfsäcke erst kurz vor der Operation mit Bouillon beschickt, und in sie geringe Mengen hoch virulenten Milzbrands eingesät, die frisch geimpften Säckchen brachte man dann sofort durch Laparotomie den Versuchsthieren in die Bauchhöhle ein. Obschon hier die Prüfung der Dichte fortfiel, konnten doch mit den Membranen gute Resultate erreicht werden. Die Thatsache, dass die mit virulentem Milzbrand gefüllten Schilfsäckchen selbst nach Wochen in der umgebenden Bouillon keine Trübung hervorriefen, widerlegt in einwandsfreier Weise die Behauptung von H. Hensen (71), dass die Bakterien künstliche und natürliche Membranen auf dem Wege des Durchwachsens zu durchdringen vermögen. Die Schilfsäcke sind also bakteriendicht. Noch war ihre Durchgängigkeit für Salze, Albumosen, Peptone und Alkaloide zu erweisen, und es konnten die Versuche von Podbelsky, welche die schnelle Diffusion dieser Substanzen feststellten, in vollem Maasse bestätigt werden. Bei genauer Befolgung der geschilderten Methode gelang es in 20 Fällen bei Meerschweinchen, Kaninchen und Hunden Schilfsäcke, theils mit 48stündiger Bouilloncultur, theils mit Milzbrandexsudaten, theils mit eben erst geimpfter Bouillon gefüllt, mittels Laparotomie in die Bauchhöhle der Thiere einzuführen. Die sämmtlichen Versuchsthiere blieben dauernd am Leben, die Wundheilung verlief glatt und normal, und niemals wiesen sie irgend ein Symptom einer Erkrankung auf. Die anfänglichen Resultate waren nicht gerade ermunternd, die Säckchen platzten nach ihrer Einführung und die Thiere gingen, oft erst nach Tagen, an Milzbrand zu Grunde.



Nach völliger Beherrschung der Methode jedoch hatte ich keine Verluste mehr zu verzeichnen. Tödtet man nach Ablauf von 5 Tagen nach stattgehabter Operation die Versuchsthiere, so findet man die Säckchen von einer Fibrinschwarte umschlossen, welche an einzelnen Stellen beginnende Neubildung von Bindegewebe mit geringer Fettdurchsetzung aufweist. Mit der Nachbarschaft, den Därmen sowie dem Peritoneum, waren die Säckchen durch feste Stränge verwachsen, und die Serosa war in der Umgebung mehr minder stark injicirt und getrübt. Ueber die schliesslichen Schicksale der Milzbrandbakterien, über die Zeit ihres Absterbens in den Schilfsäcken, sind erst weitere Nachforschungen anzustellen (vgl. S. 293 die Untersuchungen von Sanarelli und Pekelharing). Die bisherigen mitgetheilten Versuche liefern das Ergebniss, dass der Nachweis löslicher dialysibler Toxine des Milzbrandes zur Zeit wenigstens noch aussteht. Genaueren Aufschluss über die angestellten Versuche giebt das beigefügte Versuchsprotocoll (Tab. IV).

Tabelle IV.

Schilfsackversuche.

Versuchsthier		Körpergewicht in grm	Inhalt des Schilfsackes		Menge der in d. Bauchhöhle gebrachten Bouillon in ccm	Weiterer Verlauf
			ccm	Art der Flüssigkeit		
Meerschw.	I	460	3	48 stünd. Bouilloncultur	5	Wundheilung glatt, weiteres Befinden vollkommen normal.
„	II	325	4	frisch geimpfte Bouillon	—	
„	III	455	5	Milzbrandexsudat	5	
„	IV	520	4	„	5	
Kaninchen	I	2080	5	48 stünd. Bouilloncultur	6	
„	II	2190	6	frisch geimpft	—	
„	III	2380	5	„	—	
„	IV	1940	5	Exsudat	5	
„	V	1730	3	„	6	
„	VI	1600	4	frisch geimpft	—	
„	VII	1750	4	48 stünd. Bouillon	5	
„	VIII	1950	3	„	5	
„	IX	1810	4	Exsudat	6	
„	X	2030	4	„	5	
„	XI	2103	5	48 stünd. Bouillon	5	
„	XII	1680	3	frisch geimpft	—	
Hund	I	7030	5	„	—	
„	II	7120	6	48 stünd. Bouillon	6	
„	III	6430	5	Exsudat	5	
„	IV	5970	5	„	6	

II. Ueber intracelluläre Milzbrandgifte.

Nachdem die Frage der extracellulären Gifte zu einem gewissen Abschluss gebracht war, eröffnete sich die neue Fragestellung: Birgt der Bakterienleib selbst eine toxische Substanz in sich? Für die Untersuchung der intracellulären Gifte kommen mehrere Methoden in Betracht: Entweder tödtet man die Bakterien nach dem Vorgang von R. Pfeiffer (72) mittels chemischer oder physikalischer Mittel ab, oder man presst sie nach E. Buchner (73) aus. Die Anzahl der chemischen Agentien, welche für die Abtödtung der Milzbrandbakterien überhaupt in Frage kommen, ist eine recht geringe, denn wenige nur genügen der Forderung, mit sicherer, baktericider Eigenschaft die völlige Unschädlichkeit sowohl den Bakterienzellgiften, wie dem thierischen Organismus gegenüber zu verbinden. Die Einwirkung der Desinficientien wurde nur auf Meerschweinchenexsudate geprüft, weil bei der Anwendung von Reinculturen sich stets die Schwierigkeit mit den resistenten Sporen ergiebt. Die meisten der versuchten Agentien liessen in Stich. Zwar gelang es mit 1 procent. Formalin, eine Abtödtung des vegetativen Milzbrands zu erzielen und die sonst schon bei geringen Mengen auftretende Giftwirkung des Formalins durch Hinzufügen von concentrirten, wässerigen Ammoniak zu eliminiren, indem sich dann das relativ unschädliche Hexamethylentetramin bildet. So blieb ein Kaninchen, dem ich 15 ^{ccm} derartig behandelten Milzbrandexsudates subcutan injicirte, am Leben, ebenso ein Meerschweinchen, dem ich 10 ^{ccm} unter die Haut spritzte. Allein diesen Versuchen ist nur geringer Werth beizulegen, weil ich feststellen konnte, dass die hochvirulenten Toxine des Tetanus und der Diphtherie der Höchster Farbwerke, — welche ich der Liebenswürdigkeit des Hrn. Sanitätsrath Dr. Libbertz verdanke, — durch ganz geringe Mengen Formalins schon abgeschwächt werden. So war per analogiam die Schlussfolgerung zu ziehen, dass Formalin auch auf ein eventuell vorhandenes Milzbrandzellengift in ähnlicher Weise einwirken könnte. Durch die Ueberlassung dieser Testgifte war ich überhaupt in der Lage, sämmtliche chemischen Agentien, welche ich zu ihrer Anwendung heranzog, zuvor auf ihre Einwirkung auf Toxine zu prüfen.

Bei den Nachforschungen nach einem geeigneten Desinficiens wurde meine Aufmerksamkeit auch auf das Toluol gelenkt, welches in neuester Zeit schon öfters bei Toxinuntersuchungen mit gutem Gelingen angewandt wurde. Die Studien von Ehrlich und Wassermann (74) erbrachten den Nachweis, dass Diphtherietoxine durch Anwendung des Toluols sich gewinnen liessen, Wassermann (75) wandte die gleiche Methode zur Toxindarstellung bei dem Bacillus pyocyaneus an. Ehe die eigentlichen Experimente in Angriff genommen werden konnten, war durch Vor-



versuche erst festzustellen, ob durch Toluol Milzbrandbakterien abgetödtet werden. Erst als positive Resultate hierüber vorlagen, konnte man daran gehen, die Bakterien in den Meerschweinchenexsudaten durch Toluol zu vernichten. Das eingeschlagene Verfahren ist umständlich, zeitraubend und führt bisweilen nicht zum Ziele. Diese, allerdings seltene, Inconstanz der abtödtenden Wirkung findet vielleicht darin ihre Erklärung, dass die Fibrinflocken im Exsudat vom Toluol nicht hinreichend durchtränkt werden; diese Fibrinflocken nämlich geben in jenen Fällen, in Bouillon gebracht, stets eine Entwickelung. In den meisten Fällen indessen erreicht die Methode ihren Zweck. Noch erwähnenswerth ist, dass beim Schütteln der Meerschweinchenexsudate mit Toluol eine eigenthümliche Gerinnung der obersten Flüssigkeitsschicht auftritt. Die Versuchsanordnung gestaltete sich nun folgendermassen: Milzbrandexsudate werden in Mengen von 5 bis 6 ccm in Reagensgläser eingefüllt, mit $^1/_2$ ccm Toluol versetzt, die Eprouvetten mit sterilem Kork verschlossen und häufig hin- und herbewegt. Dann werden die Röhrchen 10 Tage hindurch im Dunklen bei Zimmertemperatur verwahrt und während dieser Zeit mehrmals am Tage ca. $^1/_2$ Stunde lang jedes Mal tüchtig durchgeschüttelt. Nach Ablauf von 10 Tagen wird der Inhalt der Röhrchen in einen Scheidetrichter gebracht und hier von der Toluolschicht befreit. Die Injection der Exsudate schloss sich daran an, nachdem noch durch angelegte Culturen etwaige mangelhafte Abtödtung festgestellt war. Die folgenden Versuchsreihen geben die Belege, dass mit der befolgten Methode in den Exsudaten keine Gifte ermittelt werden konnten (Tab. V).

Tabelle V.

Toluol-Exsudat-Versuche.

Versuchsthier		Körpergewicht grm	Injectionsmenge		Injectionsart	Weiterer Verlauf
			absolute ccm	relative ccm		
Maus	I	16	1	62	subcutan	bleibt vollkommen normal
„	II	18	1	83	„	„
„	III	20	2	100	„	„
Ratte	I	125	5	40	„	„
„	II	130	6	46	„	„
Meerschw.	I	360	4	11	„	„
„	II	302	5	16	„	„
„	III	436	7	16	„	„
„	IV	289	3	10	„	„
Kaninchen	I	1710	10	6	„	„
„	II	1515	12	8	„	„
„	III	1310	8	6	„	„



Gegen die angeführten Resultate konnte noch der Einwand erhoben werden, Toluol vernichte nicht nur die Bakterien, sondern auch ihr Zellgifte. Zwar wird dieser Einwurf durch die mitgetheilten analogen Versuche mit Toluol bei anderen Bakterien recht unwahrscheinlich gemacht. Allein es schien erforderlich zu sein, das negative Ergebniss der letzten Experimente auf andere Weise noch zu stützen. In Betracht kamen noch die physikalischen Methoden der Abtödtung. Nach den Untersuchungen von R. Pfeiffer werden die intracellulären Gifte des Typhus wie der Cholera bereits bei Temperaturen von 60° vernichtet. Da nun die vegetativen Formen des Milzbrandes erst nach $^1/_4$ stündigem Erhitzen bei annähernd 60° zerstört werden, so war die Anwendung der Hitze für unsere Zwecke nicht gestattet, weil der Möglichkeit Rechnung getragen werden musste, dass die intracellulären Gifte des Milzbrandes gleichfalls bei 60° eine Zerstörung erfahren. Ich versuchte darauf durch Kälteeinwirkung zum Ziele zu kommen. Die erst in der letzten Zeit im Aufschwung begriffene Kältechemie konnte keine Aufschlüse darüber geben, welche Umwandlungen der Chemismus toxischer Substanzen in der Kälte eingeht. Wohl weiss man, dass durch Kälte die Reactionsfähigkeit so bedeutend herabgesetzt werden kann, dass bei sehr tiefen Temperaturen Schwefelsäure selbst nicht auf Kalihydrat noch auf blaues Lackmus einwirkt. Und ganz allgemein beweist die physikalische Chemie durch genaue Messung Abnahme der Reactionsgeschwindigkeit mit der Temperatur. Haben aber die Körper durch Wärmeaufnahme aus der Umgebung wieder höhere Temperaturen erlangt, so finden die Reactionen nach den für diese geltenden Gesetzen statt.

Hieraus war zu folgern: Aller Wahrscheinlichkeit nach erfahren eventuelle Milzbrandzellgifte durch Einwirkung der Kälte keine derartige Spaltung und Umsetzung, wie bei Anwendung hoher Temperaturen, sodass eine Beeinträchtigung ihrer chemisch-physiologischen Wirkung nicht zu befürchten ist. In Uebereinstimmung mit Weil (76), der gleichzeitig im hiesigen Institut unter Hrn. Prof. Dr. Forster's Leitung Abtödtungsversuche mit Milzbrand durch Kälteeinwirkung vornahm, konnte ich gleichfalls eine Abtödtung sowohl der Meerschweinchenexsudate, als auch asporogener Culturen nach 110 Stunden bei —16° Kälte erreichen. Die Culturen und Exsudate wurden darnach einige Zeit bei Zimmertemperatur gehalten und alsdann in den Brütschrank bei 20° gestellt. Hierauf wurde durch angelegte Culturen die Abtödtung der Bakterien controlirt, und es folgte die Injection nach. Diese Versuche, welche in der beigefügten Tabelle wiedergegeben sind, bestätigen die Resultate, welche ich durch die Toluolexsudatversuche erhielt (Tabelle VI).



Tabelle VI.

Kälte-Versuche.

Versuchsthier		Körpergewicht in grm	Injectionsmenge			Injectionsart	Weiterer Verlauf
			absolute		relative		
			ccm	Art der Flüssigk.	ccm		
Maus	I	20	3	Exsudat	150	subcutan	vollkommen normal
„	II	18	1	„	55	„	„
„	III	21	2	„	95	„	„
„	IV	19	3	asporog. Milzbr.	158	„	„
„	V	17	2	„	118	„	„
„	VI	20	2	Exsudat	100	„	„
„	VII	16	1	asporog. Milzbr.	62	„	„
Meerschw.	I	302	4	Exsudat	13	„	„
„	II	345	5	„	14	„	„
„	III	293	4	asporog. Milzbr.	14	„	„
„	IV	422	6	„	14	„	„
Ratte	I	90	3	Exsudat	33	„	„
„	II	108	5	asporog. Milzbr.	46	„	„
Kaninchen	I	1679	5	Exsudat	3	„	„
„	II	1575	6	„	4	„	„
„	III	1750	8	asporog. Milzbr.	4	„	„
„	IV	1020	5	„	5	„	„

Endlich wandte ich noch die E. Buchner'sche Methode an, welche der neuesten Zeit ihren Ursprung verdankt; sie bezweckt die Zerreissung und Zermalmung, sowie die mechanische Auspressung der Zellsäfte durch die hydraulische Presse. In den bereits citirten Publikationen (vgl. Anm. 73) findet sich eine genaue Beschreibung des Verfahrens, und ich verweise bezüglich der detaillirten Darstellung auf diese. Durch H. Buchner's Schüler M. Hahn (vgl. Anm. 44) ist diese Methode zuerst für die pathogenen Bakterien herangezogen worden. Auch der Milzbrand fand bei ihm eine, allerdings kurze, Erwähnung. Trotz aller Vorzüge hat das Verfahren einen Missstand an sich, es gelingt niemals durch vorausgehende mechanische Zerreibung sämmtliche Bakterien zu vernichten, und so ist man genöthigt, die noch nicht völlig keimfreien Zellsäfte durch Chamberland zu filtriren, oder eine Abtödtung der Bakterien durch Toluol vorauszuschicken. So geht man der Vortheile, welche diese Methode von Haus aus bringen sollte, zum Theil wieder verlustig. Der Gang der Untersuchung gestaltete sich nun folgendermassen.

Eine ganze Reihe von Kaninchen und Meerschweinchen werden mit Milzbrandexudat gleichzeitig inficirt. Die in bekannter Weise durch Zer-

reiben hergestellten Organaufschwemmungen kommen, in ein derbes Presstuch eingeschlagen, in die hydraulische Presse und werden bei 500 Atmosphären Druck ausgepresst. Die resultirende Flüssigkeit, welche im mikroskopischen Bilde hier und da noch wohl erhaltene Bakterien aufweist, wird in den Chamberland gebracht, filtrirt und das Filtrat, sofort den Versuchsthieren injicirt. Vorher werden die Filtrate natürlich wieder durch Culturen und Deckglaspräparate auf ihre Keimfreiheit geprüft. Ein Theil der Pressflüssigkeit wurde auch mit Toluol behandelt, und so die Abtödtung der wenigen Bakterien erzielt. Diese Versuche führen uns zu denselben Resultaten, wie die beiden vorhergehenden Versuchsreihen, und somit zu dem Schlussergebniss, dass der Nachweis von intracellulären Giften des Milzbrandes zur Zeit wenigstens nicht erbracht werden kann (Tabelle VII).

Tabelle VII.

E. Buchner'sche Methode.

Versuchsthier		Körpergewicht grm	Injectionsmenge		Injectionsart	Weiterer Verlauf
			absolute ccm	relative ccm		
Maus	I	19 1/2	1	47	subcutan	vollkommen normal
„	II	16	1/2	31	„	„
„	III	25	4	160	„	„
„	IV	22	2	91	„	„
„	V	23	3	130	„	„
„	VI	20	5	250	„	„
„	VII	18	4	222	„	„
Ratte	I	63	4	63	„	„
„	II	70	5	71	„	„
„	III	86	8	93	„	„
Meerschw.	I	325	5	15	intraperiton.	„
„	II	287	3	10	„	„
„	III	298	4 1/2	15	subcutan	„
„	IV	285	10	35	„	„
„	V	394	12	30	„	„
Kaninchen	I	1372	9	7	„	„
„	II	1485	5	3	intravenös	„
„	III	1345	10	7	subcutan	„
„	IV	1538	12	8	„	„
„	V	1650	14	8	„	„

III. Ueber sogenannte „Toxalbumine“ des Milzbrands.

Brieger und C. Fränkel, die Begründer der Lehre von den Toxalbuminen, haben auch für den Milzbrand eine giftige Eiweisssubstanz beschrieben. Inzwischen hat sich durch die Untersuchungen von Brieger (77) selbst herausgestellt, dass die bakteriellen Giftstoffe, wie z. B. des Tetanus und der Diphtherie, dem Eiweiss nur äusserlich anhaften und nicht mit ihm verbunden sind. Obwohl also jetzt feststeht, dass die damaligen „Toxalbumine“ keine chemisch wohl charakterisirten Körper darstellen, so ist doch die Methode, welche ihre Isolirung und die der anhaftenden, eigentlichen Gifte ermöglicht, auch heute noch der Nachprüfung werth. Nachdem festgestellt werden konnte, dass die Filtrate, aus welchen Brieger und C. Fränkel ihre „Toxalbumine“ erhalten haben, sich als völlig ungiftig erwiesen, lag um so mehr Veranlassung vor, mittels ihrer Methode den Bakteriengiften des Milzbrands nachzuspüren. In der historischen Uebersicht (S. 291) wurde bereits eingehend ihr Verfahren der Alkoholfällung geschildert, und es erübrigt nur hervorzuheben, dass die Methode sorgfältig befolgt wurde. Nur zog ich vor, die Filtrate der Organaufschwemmungen sofort weiter zu verarbeiten, weil bei der gewöhnlichen Eisschranktemperatur von 6 bis 7° C. selbst innerhalb 12 Stunden Proteusentwickelung eintreten kann.[1] Sind erst einmal die Filtrate mit dem Alkohol in Berührung, so ist die Gefahr einer Verunreinigung nicht mehr zu befürchten. Die Ausbeute mittels dieser Methode bei der ausschliesslichen Verwendung von Milz und Leber ist nicht besonders gross: Man erhält im Durchschnitt von diesen Organen eines Kaninchen 2 ^{dcg} feste Substanz. Obschon der isolirte Körper die von den Autoren beschriebenen chemischen Eigenschaften durchgehends aufwies, konnte irgend eine Toxicität desselben nicht constatirt werden. Selbst in verhältnissmässig hohen Dosen habe ich bei keinem der Versuchsthiere Erscheinungen beobachten können, welche jenseits der physiologischen Breite lagen. Die ziffernmässigen Angaben der Versuche finden sich in dem nachfolgenden Versuchsprotocoll (Tabelle VIII, S. 312).

Die Ergebnisse der zuletzt angeführten Experimente waren so überraschend, dass ihre Nachprüfung durch ein Verfahren jüngeren Datums am Platze zu sein schien. Ich verfuhr nach dem Vorgang von Marmier[2], der aus Kartoffelculturen zwar keine „Toxalbumine“, wohl aber giftige Substanzen von völlig unbekannter, chemischer Constitution erhalten hatte. Seine Methode stellt indessen nur eine Modifikation der Brieger-Fränkel'-

[1] Vgl. E. Levy, a. a. O.

[2] A. a. O.



Tabelle VIII.

Brieger — C. Fränkel-Versuche.

Versuchsthier		Körper-gewicht grm	Injectionsmenge absolute grm	relative grm	Injectionsart	Weiterer Verlauf
Maus	I	16	0·0015	0·09	subcutan	vollkommen normal
„	II	21	0·02	0·95	„	„
„	III	22	0·03	1·37	„	„
„	IV	21	0·025	1·19	„	„
„	V	19	0·02	1·05	„	„
Ratte	I	293	0·05	0·17	„	„
„	II	74	0·05	0·67	„	„
„	III	42	0·1	2·38	„	„
„	IV	384	0·2	0·52	„	„
Meerschw.	I	293	0·05	0·15	„	„
„	II	280	0·015	0·053	„	„
„	III	485	0·1	0·206	„	„
„	IV	690	0·2	0·29	„	„
Kaninchen	I	1040	0·3	0·28	„	„
„	II	1255	0·25	0·19	„	„
„	III	1240	0·035	0·028	„	„
„	IV	1340	0·065	0·048	„	„
„	V	1418	0·2	0·14	„	„

Tabelle IX.

Marmier-Versuche.

Versuchsthier		Körper-gewicht	absolute	relative	Injectionsart	Weiterer Verlauf
Maus	I	17	0·008	0·47	subcutan	vollkommen normal
„	II	26	0·012	0.46	„	„
„	III	30	0·03	1·0	„	„
„	IV	27	0·06	2·22	„	„
„	V	21	0·02	0·95	„	„
Ratte	I	69	0·012	0·17	„	„
„	II	52	0·06	1·15	„	„
„	III	98	0·024	0·24	„	„
Meerschw.	I	252	0·3	1·18	intraperiton.	„
„	II	295	0·24	0·81	„	„
„	III	370	0·15	0·405	subcutan	„
„	IV	168	0·1	0·59	„	„
Kaninchen	I	1470	0·3	0·204	„	„
„	II	1795	0·4	0·22	„	„
„	III	1006	0·69	0·59	„	„
„	IV	1234	0·5	0·405	„	„

schen dar, und so trug ich kein Bedenken, sie zur Gewinnung von „Toxalbuminen“ in folgender Weise heranzuziehen. Milz und Leber von Milzbrandkaninchen werden im Mörser mit Granitsand zu einem dünnflüssigen Brei verrieben. Zu dieser Aufschwemmung wird 42proc. Alkohol (20proc. nach Beaumé) in fünffacher Menge hinzugefügt, und das Ganze 24 Stunden auf Eis stehen gelassen. Dann filtrirt man und setzt zu dem Filtrat die fünffache Menge absoluten Alkohols hinzu. Es bildet sich dann ein flockiger, weisslich gelber Niederschlag, der nach Absetzen der Flüssigkeit durch Filtriren getrennt wird. Den Niederschlag auf dem Filter wäscht man mit dem absoluten Alkohol aus und entfernt den Alkohol selbst mittels Aether. Der Niederschlag wird dann über Schwefelsäure getrocknet, gewogen, mit geringen Mengen physiologischer Kochsalzlösung gleichmässig zerrieben und alsbald injicirt. Auch hier war die Ausbeute an fester Substanz nicht gerade reichlich. Das Ergebniss der vorstehend mitgetheilten Tabelle bestätigt in jeder Hinsicht die Resultate, welche ich bei Wiederholung der Brieger-Fränkel'schen Methode erhalten hatte, und macht die Schlussfolgerung wahrscheinlich, dass der Milzbrand keine „Toxalbumine“ bildet (Tabelle IX).

Ein Rückblick auf die vorliegende Arbeit hebt folgende Thatsachen heraus: Bei Anwendung unserer gegenwärtigen Methoden konnte der Nachweis nicht erbracht werden, dass der Milzbrandbacillus ein extracelluläres, lösliches, oder ein intracelluläres Gift im Organismus empfänglicher oder refractärer Thiere bildet. Auf Grund der angestellten Versuche gewinnt vielmehr die Annahme hohe Wahrscheinlichkeit, dass der Milzbrand überhaupt keine giftigen Substanzen im Thierkörper erzeugt. Mit diesem Ergebniss ist das Problem des Zustandekommens der Milzbrandinfection in keiner Weise klarer, eher denn verwickelter geworden. Ob späterhin den Fortschritten verfeinerter, chemischer Methodik eine Toxindarstellung gelingen wird, entzieht sich unserer Beurtheilung. Vorläufig ist die Hypothese von der Existenz eines Milzbrandgiftes zurückgewiesen worden, und bis auf Weiteres hat der Milzbrandbacillus als Typus eines infectiösen Mikroorganismus zu gelten.

Litteratur.

1. Roux u. Yersin, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1888. Nr. 12. p. 642. — *Ebenda.* 1889. Nr. 6. p. 273.

2. Brieger u. C. Fränkel, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1890. Nr. 11 u. 12.

3. Knud-Faber, *Ebenda.* 1890. Nr. 31.

4. Kitasato, *Diese Zeitschrift.* 1891. Bd. X. S. 267.

5. Löffler. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1890. Jahrg. XVI. S. 109.

6. E. van Ermengem, *Diese Zeitschrift.* 1897. Bd. XXVI.

7. Virchow, *Handbuch der speciellen Pathologie und Therapie.* 1855. Bd. II. Abth. I. S. 389.

8. de Bary, *Vorlesungen über Bakterien.* Leipzig 1885.

9. Pasteur, *Compt. rend. de l'Acad. des Sciences.* 1877. T. LXXXIV. p. 905.

10. Davaine, *Ebenda.* 1863. T. LVII. p. 220.

11. Nencki, *Berichte der deutschen chem. Gesellschaft.* 1884. S. 2605.

12. Dyrmont, *Archiv f. experim. Pathologie u. Pharmakologie.* 1886. Bd. XXI. S. 309.

13. Tatarski, *Petersburger Archiv für Vet.-Medicin.* 1886. — Ref. *Jahresber. der Vet.-Med.* 1887. Bd VI. S. 14.

14. Osol, *Inaug.-Dissertation.* Dorpat 1885.

15. W. Koch, *Milzbrand und Rauschbrand.* Stuttgart 1886.

16. A. Hoffa, *Die Natur des Milzbrandgiftes.* Wiesbaden 1886. — Ferner: Langenbeck's *Archiv.* Bd. XXXIX. S. 273.

17. L. Brieger, *Untersuchungen über Ptomaïne.* Berlin 1886. III. Theil. S. 18.

18. Baumgarten, Baumgarten's *Jahresbericht.* 1887. S. 123.

19. E. Hankin, *British Med. Journal.* 1889. Nr. 1502. p. 810. — *Ebenda.* 1890. Nr. 1541. p. 65.

20. Räsanzew, *Petersburger Archiv für Vet.-Medicin.* 1889. — Ref. *Jahresbericht der Vet.-Med.* 1890. Bd. IX. S. 26.

21. S. Martin, *19. Annual Report of the local Gov. Board London.* 1889—1890. p. 235. (Ref.) — *Proc. Royal Society 1890.* Mai 22. (Ref.) — *Local Gov. Board. Rep.* 1890—1891. p. 255. (Ref.)

22. Wassermann u. Proskauer, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1891. Jahrgang XVII. S. 585.

23. M. Popoff, *Centralblatt f Bakteriologie u. Parasitenkunde.* 1890. Bd. VII. Nr. 19. S. 585.

24. Cl. Fermi, *Archiv für Hygiene.* 1890. Bd. X. S. 1.

25. Balp und Carbone, *Giornale della R. accademia di medicina di Torino.* 1891. Nr. 9 u. 10. (Ref.)



26. L. Landi, *Rivista generale italiana di clinica medica.* 1891. Nr. 20—22. (Ref.) — *Le bulletin méd.* 1891. Nr. 80.

27. G. Klemperer, *Zeitschr. für klin. Medicin.* 1892. Bd. 20. S. 165.

28. Maltzew, *Russkaia Medicina.* 1891. Nr. 11. (Ref.)

29. Petermann, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1892 T. VI. p. 32.

30. Hankin u. F. Wesbrook, *Ebenda.* 1892. T. VI. p. 633.

31. Vaillard, *Ebenda.* 1891. T. V. p. 24.

32. Sanarelli, *Ebenda.* 1893. T. VII. p. 820.

33. Pekelharing, Ziegler's *Beiträge zur pathol. Anatomie.* 1890. Bd. VIII. S. 263.

34. Iwanow, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1892. T. VI. p. 131.

35. Maumus, *Semaine médic.* 1893. p. 50. — *Compt. rend. de la soc. de biolog.* 28 janv. 1893.

36. Roger, *Semaine médic.* 1893. p. 129.

37. Petri und Maassen, *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1893. Bd. VIII. S. 318.

38. Heim und Geyger, vgl. Heim, *Lehrbuch der bakt. Unters. und Diagn.* Stuttgart 1894. S. 229.

39. E. Klein, *Centralblatt für Bakteriologie u. Parasitenkunde.* 1894. Bd. XV. Nr. 16. S. 598.

40. Bianchi-Mariotti, *Wiener med. Presse.* 1894. Nr. 36. S. 1340.

41. L. Marmier, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1895. T. IX. p. 533.

42. Schneidemühl, *Lehrbuch der vergleichenden Pathologie und Therapie der Menschen und Hausthiere.* Leipzig 1895. S. 14.

43. Friedberger und Fröhner, *Lehrbuch der speciellen Pathol. u. Therapie der Haussäugethiere.* Stuttgart 1892.

44. M. Hahn, *Münchener med. Wochenschrift.* 1897. S. 1344.

45. Krehl, *Archiv für experim. Pathol. u. Pharm.* 1895. Bd. XXXV. S. 222.

46. Pasteur, *Bulletins de l'Académie de méd.* 1880. T. IX. p. 684.

47. Loewit, *Vorlesungen über allgem. Pathologie.* Hft. 1. — *Die Lehre vom Fieber.* Jena 1897.

48. Lodge, *Arch. de la méd. expérim.* T. II. p. 759. (Ref.)

49. Charrin, *Arch. de physiolog.* 1889.

50. v. Recklinghausen, *Handb. d. allgem. Pathologie.* Stuttgart 1883. S. 504.

51. Roux u. Chamberland, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1888. T. I. p. 561.

52. Roux, *Ebenda.* 1888. T. II. p. 49.

53. Metschnikoff, *Semaine méd.* 1892. p. 469.

54. E. Levy, *Archiv für experim. Pathol. und Pharm.* 1894. Bd. XXXIV.

55. Fodor, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1887. Nr. 34. S. 745.

56. Nuttall, *Diese Zeitschrift.* 1888. Bd. IV. S. 382.

57. Nissen, *Ebenda.* 1889. Bd. VI. S. 487.

58. Buchner, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1889. Bd. V. S. 817. — *Ebenda.* 1889. Bd. VI. S. 1. — *Archiv für Hygiene.* 1890. Bd. X. S. 84. — *Ebenda.* 1893. Bd. XVII. S. 112.

59. R. Stern, *Zeitschrift für klin. Medicin.* 1891. Bd. XVIII. S. 46.

60. Lubarsch, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1889. Bd. VI. S. 481, 529, 1481. — *Zeitschrift für klin. Medicin.* 1891. Bd. XIX. S. 361.

61. Metschnikoff, *Semaine méd.* 1892. p. 469.

62. Sirotinin, *Diese Zeitschrift.* 1888. Bd. IV. S. 288.



63. Foa e Pellacani, *Arch. della scienc. med.* Vol. VII. 13. Torino 1883. (Ref.)

64. Royer, *Compt. rend. soc. biol.* 31. Oct. 1891.

65. Mairet-Vires, *Arch. de phys.* 1897. Nr. 2.

66. A. Marie, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1897. T. XI. p. 591.

67. Metschnikoff, Immunität. *Handbuch der Hygiene* von Weyl. Jena 1897. Bd. IX. S. 13.

68. Vincent, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1898. T. XII. p. 785.

69. Metschnikoff, *Ebenda.* 1887. T. I. p. 326.

70. Podbelsky, *Ebenda.* 1898. T. XII. p. 433.

71. H. Hensen, *Zeitschrift für Biologie.* 1897. Bd. XXXV. S. 101.

72. R. Pfeiffer, *Diese Zeitschrift.* 1892. Bd. XI. S. 393.

73. E. Buchner, *Bericht der deutschen chem. Gesellschaft.* 1897. Jahrg. XXX. Bd. I. S. 1110. — *Ebenda.* 1897. Jahrg. XXX. Bd. I. S. 117. — E. Buchner und Rapp, *Ebenda.* 1897. Jahrg. XXX. Bd. II. S. 2668.

74. Ehrlich u. Wassermann, citirt nach Wassermann, *Diese Zeitschrift.* 1896. Bd. XXII. S. 268.

75. Wassermann, *Ebenda.* 1896. Bd. XXII. S. 268.

76. R. Weil, *Inaug.-Dissertation.* Bern 1899.

77. L. Brieger u. G. Cohn, *Diese Zeitschr.* 1893. Bd. XV. S. 1. — L. Brieger, *Ebenda.* 1895. Bd. XIX. S. 101.

[Aus dem Institut für Infectionskrankheiten zu Berlin.]

Ein Beitrag zur Behandlung der Malaria mit Methylenblau.

Von

Stabsarzt a. D. **Ollwig**.

Nachdem P. Guttmann und P. Ehrlich[1] in je einem Falle von Malaria tertiana und tertiana duplex das Methylenblau mit gutem Erfolge, da nach 1- bezw. 2tägiger Anwendung von 0·5 grm Methylenblau Heilung eintrat, angewendet hatten, haben mehrere Autoren die Versuche mit dem Mittel wiederholt und dasselbe in seiner Einwirkung auf den Fieberverlauf und die Malariaparasiten geprüft und studirt. Zu endgültigen übereinstimmenden Ergebnissen haben diese Untersuchungen bis jetzt nicht geführt und sind die Ansichten der einzelnen Autoren über den Werth desselben recht getheilt.

Grawitz[2] will bei einem Kranken mit „chronischer, irregulärer, in Ostafrika acquirirter Malaria mit Halbmondformen", den er nach Vorschrift von Guttmann und Ehrlich mit 0·5 grm Methylenblau pro die behandelte, keinen Erfolg gesehen haben. Diesem ungünstigen Urtheile schliesst sich Ziemann[3] an.

Nach seinen Erfahrungen soll Methylenblau medicin. pur., welches er in 3 Fällen von Malaria tertiana, 3 von M. quartana und 3 von Estivo-Autumnalfieber in Einzeldosen von 0·1 bis 0·3 grm und Tagesdosen von 0·9 bis 2·0 grm verabreichte, keine Einwirkung auf die Parasiten und

[1] *Berliner klin. Wochenschrift.* 1891. Nr. 39.

[2] *Ebenda.* 1892. Nr. 2. S. 138.

[3] *Ueber Malaria und andere Blutparasiten.*



damit auf den Gang der Infection besitzen. Jedoch liess er im Gegensatze zu fast allen anderen Autoren, welche eine über Wochen sich erstreckende Methylenblaubehandlung zur Anwendung brachten, das Mittel nur 3 Tage lang verabreichen, ein Umstand, dem möglicher Weise der völlige Misserfolg zuzuschreiben ist. Wenn F. Plehn,[1] der in mehreren Fällen von Schwarzwasserfieber Methylenblau zur Anwendung brachte — Dosirung giebt er nicht an —, ohne irgend welche therapeutischen Erfolge erzielt zu haben, schliesslich noch als Grund gegen das Verabreichen des Mittels seine intensive Färbekraft anführt, welche er bei den fortwährenden Brechanfällen der Schwarzwasserfieberkranken zum mindesten als eine recht unangenehme Zugabe bezeichnet, ist doch immerhin der Zweifel gestattet, ob dasselbe in genügend wirksamer Menge resorbirt worden ist, zumal bei dem dunklen Urin derartiger Kranker eine intensive Blaufärbung desselben, das einzige Kriterium für die Resorption des Farbstoffes, sich schwer constatiren lässt.

Voll und ganz bestätigen Dr. Stan. Parenski und Dr. Stephan Blatteis[2] die guten Erfolge Guttmann's und Ehrlich's. Gestützt auf 35 Fälle von Malaria, in denen sie chlorzink- und arsenfreies Methylenblau von Merck subcutan in Dosen von Anfangs 0·02, später 0·1 ^{grm} pro die und innerlich in Dosen von 0·4 bis 0·5 ^{grm} 2 bis 3 Mal täglich anwandten, erklären beide Autoren das Methylenblau dem Chinin als Antimalaricum für völlig ebenbürtig. Bei subcutaner Anwendung sollen die Fieberanfälle nach 3 bis 5 Einspritzungen, bei innerer Anwendung nach 3 bis 6 Dosen coupirt worden sein, dagegen sollen die Plasmodien langsamer aus dem Blute geschwunden sein.

Mit demselben Methylenblaupräparat hat nach seiner Ansicht Dr. Werner Roettger[3] eine unzweifelhafte Einwirkung auf den Fieberverlauf von 7 Malariakranken, denen er es in Kapseln zu 0·1 ^{grm} 6 bis 8 Mal am Tage verabreichte, beobachtet. „Die Dauer der Methylenblaudarreichung erstreckte sich über 8 Tage als Minimum bis auf 33 Tage als Maximum." Massgebend für das Aussetzen des Mittels war bei ihm das Verschwinden der Plasmodien aus dem Blute und das Zurückgehen der Milzschwellung.

In 2 Fällen von Malaria will Dr. Siegfried Neumann[4] innerhalb 8 bis 9 Tagen vollen Erfolg mit Methylenblau in der Dosirung von 3 bis 5 Mal täglich 0·1 ^{grm} erzielt haben, während in einem 3. Falle noch zwei grössere Chinindosen verabreicht werden mussten.

---

[1] Ueber das Schwarzwasserfieber an der afrikanischen Westküste. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1895. Nr. 25, 26 u. 27.

[2] *Therapeutische Monatshefte.* Januar 1893.

[3] Ein Beitrag zur Behandlung der Malaria mit Methylenblau. *Inaug.-Dissert.*

[4] *Therapeutische Monatshefte.* 1893. S. 190.



Dagegen sollen in 4 von 5 Fällen von typischer Malaria, welche von Prof. Ketli[1] behandelt wurden, schon nach 1- bis 2maligem Verabreichen des Mittels die Anfälle unterdrückt worden sein, aber trotz Weiterverabreichung in wenigen Tagen Recidive aufgetreten sein, welche mit Chinin zur Heilung gebracht wurden. Im 5. Falle soll auch keine Einwirkung auf den Fieberverlauf festgestellt sein. Er hält den therapeutischen Werth des Methylenblau für weit hinter den des Chinins zurückstehend.

Die stattliche Zahl von 275 klinischen Beobachtungen über das Methylenblau veranlassten Cardamitis[2] zu dem Urtheile, dasselbe als das wirksamste und das Chinin, was seinen therapeutischen Werth anbelangt, weit überragende Mittel gegen Malaria zu preisen. Was die Anwendung des Mittels anbelangt, so machte er Unterschiede zwischen M. quotidiana acuta et chronica einerseits und Tertiana und Quartana andererseits, und zwar derart, dass er bei der ersten Gruppe denjenigen Kranken, die nach 5 Tagen fieberfrei waren, 22 Tage lang, und den Kranken, welche innerhalb 5 bis 7 Tagen vom Fieber befreit waren, 48 Tage lang, und den Patienten der zweiten Gruppe 60 Tage lang mit bestimmten Unterbrechungen Arznei gab. Als Tagesdosis wurde Männern 10 bis 12 Gran, jugendlichen Personen 8 Gran, Kindern 6 Gran und Säuglingen 1 bis 2 Gran verabreicht. Bei dieser Art der Behandlung will er von 100 Fällen 93 Mal unbestreitbare Erfolge gehabt und die Malaria ohne Recidiv radical geheilt haben.

In 41 Fällen von Quotidiana will Dr. Fr. Mays[3] in Chibrikit (Egypten) mit gutem Erfolge chlorzinkfreies Methylenblau Merck in Dosen von 0·1 grm 3 bis 5 Mal täglich in Anwendung gebracht haben; der Erfolg soll um so mehr in die Augen springend gewesen sein, als es sich um Fälle handelte, bei denen Chinin nach langem Gebrauche sich als vollständig wirkungslos erwiesen hatte. Gar keinen Erfolg will er im Gegensatz zu Rosin bei 7 Fällen von Tertiana gesehen haben. Ob und in welcher Zeit sich Recidive einstellten, ist aus der Arbeit nicht ersichtlich.

W. A. Beck[4] behandelte 9 Fälle von Febris remittens, 4 von F. intermittens, 3 von Quotidiana, 2 von Cachexia paludosa, und 5 Fälle, in denen die Art der Malaria nicht angegeben ist, theils mit Methylenblau, theils mit Methylenblau und Chinin. In Behandlung kamen fast nur solche Kranke, die vorher schon kürzere oder längere Zeit mit oft hohen Chinin-

---

[1] *Therapeutische Monatshefte.* 1893. S. 510.

[2] *Deutsche med. Wochenschrift.* Therapeutische Beilage Nr. 2. 3. Febr. 1898.

[3] Ueber die therapeutische Verwendbarkeit des Methylenblaus. *Münchener med. Wochenschrift.* 1898. Nr. 24.

[4] Methylenblauw en Chinine by Malaria. *Geneskundig Tijdschrift voor Nederlandsch-Indie.* Deel XXXVII. Aflevering 5 und 6.



dosen ohne Erfolg behandelt waren. Nach seiner Beobachtung kürzte das Methylenblau, besonders in Verbindung mit Chinin, die Dauer der Malaria, aber nicht der einzelnen Anfälle ab. Als besonders rühmenswerth hebt er hervor, dass Störungen von Seiten des Digestionsapparates, die bei hohen Chinindosen sehr häufig beobachtet wurden, niemals auftraten. Recidive sollen leicht besser als durch Chinin beeinflusst sein.

Die Arbeiten von Mya, der keine günstige Meinung von der Wirksamkeit des Methylenblau hatte, sowie von Trintignau, Boinet und Valvassori, welche demselben einen thatsächlichen Einfluss auf die Malariaparasiten zuschrieben, stehen mir nicht zur Verfügung, ich kann daher dieselben hier nicht heranziehen.

Man sieht aus der angeführten Litteratur, wie verschieden und einander widersprechend die einzelnen Autoren das Methylenblau, sowohl was seine Wirksamkeit auf die Parasiten und den Fieberverlauf, als auch die Verhütung von Recidiven anbelangt, beurtheilen. Während die einen dasselbe als Antimalaricum äusserst günstig beurtheilen und es in seiner Wirksamkeit sogar über das Chinin stellen, andere demselben als gleichwerthig erachten, sprechen einige Autoren dem Mittel jeden therapeutischen Werth ab.

Bei diesem Widerspruche der Meinungen einerseits und der wichtigen Rolle, welche die Therapie der Malaria bei der grossen Verbreitung dieser Krankheit über die Erdoberfläche spielt, andererseits, ist es von hohem Interesse und praktischer Wichtigkeit, weitere Beiträge zur Lösung der Frage zu sammeln, ob und in welchem Maasse das Methylenblau geeignet ist, als Antimalaricum besonders in den Fällen, wo eine Disposition zum Schwarzwasserfieber besteht, in Anwendung gebracht zu werden.

Es hat daher Hr. Geheimrath Prof. Dr. Koch die Güte gehabt, mich mit der Veröffentlichung des im Institute für Infectionskrankheiten befindlichen Materiales über Behandlung von Malaria mit Methylenblau zu beauftragen, wofür ich ihm auch an dieser Stelle ergebenen Dank ausspreche.

Von den hier in Berlin zur Beobachtung gekommenen 8 Fällen handelte es sich 3 Mal um M. tertiana, 2 Mal um M. tertiana duplex und 3 Mal um M. tropica. Dazu kommen noch je 1 Fall von M. quartana und M. estivo-autumnalis, welche Geheimrath Koch während seines Aufenthaltes in Rom mit Methylenblau behandelte.

Bei allen Kranken wurden, wie auch auf den Curven ersichtlich, sorgfältige, öfter mehrmals am Tage vorgenommene Blutuntersuchungen in der Weise gemacht, dass das dünn auf ein Deckgläschen verstrichene Blut getrocknet, etwa 20 Minuten lang in Alkohol gehärtet und schliesslich mit Löffler'scher Methylenblaulösung, Borax-Methylenblaulösung nach Manson (Borax 5·0, Methylenblau 2·0, Aqu. 100·0) und mit der



Romanowsky-Methode gefärbt wurde. Aus dem Parasitenbefunde wurde jedes Mal die Diagnose gestellt.

Die Zeichen für die Parasiten auf den Curven sind die von **Rob. Koch** eingeführten. Sie bedeuten:

- o kleiner ringförmiger Parasit.
- O mittelgrosser ringförmiger Parasit.
- ◯ grosser ringförmiger Parasit.
- ▪ mittelgrosser Tertianparasit und Quartanparasit.
- ■ erwachsener Tertianparasit und Quartanparasit.
- ⁘ Sporulationsform.
- ‿ Halbmond.

Die von den Parasiten nach unten geführten senkrechten Linien zeigen die Zeiten der Blutentnahme an.

Fall 1. Kam im Juni 1896 nach Deutsch-Südwestafrika. Daselbst im März 1897 erster Fieberanfall, der nur 2 Stunden gedauert haben soll. Nächstes Fieber 4 bis 6 Wochen später, von da an alle 2 bis 3 Wochen. Im December 1897 ging er mit Dampfer nach Kapstadt. Daselbst ebenfalls alle 14 Tage Fieber, ebenso auf der Fahrt nach Europa und in Europa.

Mehrere im Juni 1898 vorgenommene Blutuntersuchungen ergaben einen negativen Parasitenbefund.

Am 22. VII. 1898 plötzlich starker Frost. $^3/_4$ Stunden später Hitzegefühl. Bald darauf starkes Schluchzen, Herzklopfen, Angstgefühl, Bewusstlosigkeit. $^1/_2$ Stunde später Schweissausbruch.

23. VII. Starke Appetitlosigkeit und Schwächegefühl. Schweiss. Im Blute einzelne mittelgrosse und erwachsene Tertianparasiten.

Diagnose: M. tertiana.

24., 25. und 26. VII. Im Blute wenige erwachsene Tertianparasiten. Ordination: 5 Mal 0·1 ^{grm} Methylenblau-Merck.

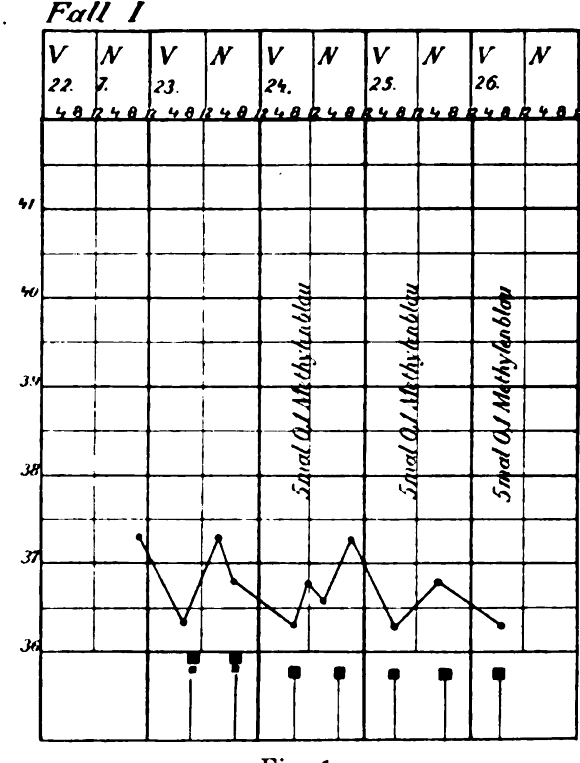


Fig. 1.



Vom 27. VII. an negativer Parasitenbefund.

Methylenblaucur wurde in der Weise fortgesetzt, dass er in 2 Monaten abwechselnd 5 Tage lang je 5 Mal 0·1 ^{grm} nahm und dann 3 bis 5 Tage aussetzte. Anfangs starke dysurische Beschwerden, wogegen er reichlich

Muscatnuss nahm. Am Ende der 2. Woche keine Beschwerden mehr, auch ohne Muscatnuss.

Bis 8. II. 1899 kein Recidiv.

Fall 2. War mehrere Jahre in Deutsch-Ostafrika thätig. Daselbst wenig Fieber. Während seines Aufenthaltes in Deutschland nahm er am 16. VII. 1898, weil er glaubte, Fieber zu bekommen, 1·0 grm Chinin, einige Stunden darauf Schüttelfrost, Erbrechen und Hämoglobinurie. Im Blute wurden damals keine Parasiten gefunden. Der Hämoglobingehalt sank bis auf 42 Procent.

Am 31. VII. war der Hämoglobingehalt bis auf 66 Procent wieder gestiegen. Am Nachmittage desselben Tages bekam er plötzlich Unwohlsein,

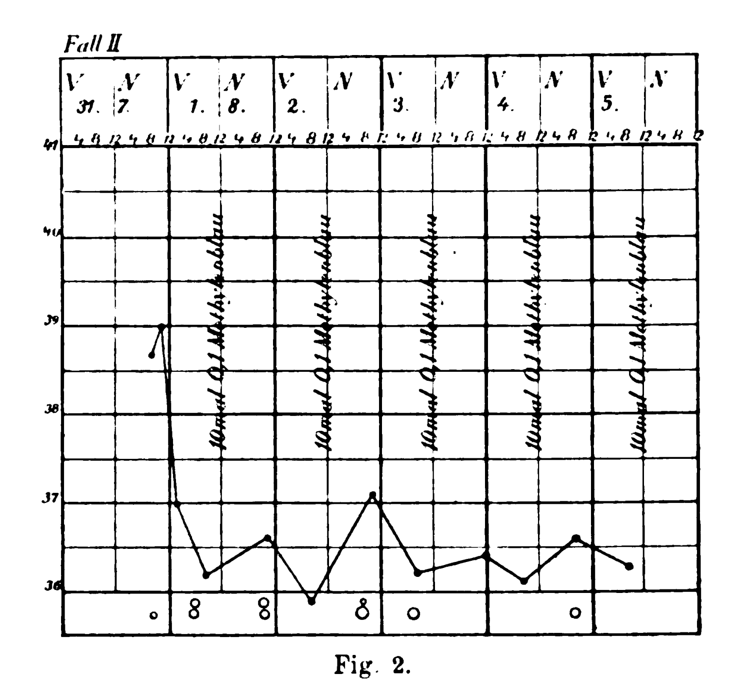


Fig. 2.

Kopfschmerzen, Erbrechen, Fieber. Abends im Blute kleine ringförmige Parasiten.

Diagnose: M. tropica.

1. VIII. 7 Uhr 50 Min. mittelgrosse Ringe, mässig reichlich. Hämoglobingehalt 50 Procent.

2. VIII. 10 Uhr mässig viele grosse Ringe. Erhält 10 Mal täglich 0·1 grm Methylenblau-Merck. Morgens Blutbefund negativ. Abends vereinzelt grosse und kleine Ringe.

3. VIII. 12 Uhr einzelne mittelgrosse Ringe. 10 Mal 0·1 grm Methylenblau.

4. VIII. Morgens Blutbefund negativ. Abends sehr wenige grosse Ringe. Hämoglobingehalt 63 Procent. 10 Mal 0·1 grm Methylenblau.

Von da an Blutbefund negativ.

Nach dem Verbrauche von 14·0 grm Methylenblau wurde 8 Tage ausgesetzt, dann wieder 14 Tage lang je 1·0 grm genommen, darauf 10 Tage pausirt, von da an 10 Tage lang täglich 1·0 grm und schliesslich nach

8 tägiger Pause nochmals 8 Tage lang täglich 1·0 grm Methylenblau eingenommen.

8. VIII.	Hämoglobingehalt	72 Procent.
15. X.	„	75 bis 80 „
3. XI.	„	85 „
18. III. 1899	„	95 „

Bis zum 20. III. 1899 kein Recidiv.

Fall 3. (Keine Curve.) War einige Jahre in Deutsch-Ostafrika. Daselbst kurz vor seiner Abreise nach Deutschland Schwarzwasserfieber. Am 24. und 26. VI. 1898 Frost und Hitze wie bei Malaria, die Patient früher gehabt hat. Am 27. VI. stellte er sich im Institute vor.

Blutuntersuchung: Grosse pigmentirte und ringförmige Tertianparasiten.

Diagnose: M. tertiana.

Es wird Methylenblaucur eingeleitet. Patient erhält 5 Tage lang 5 Mal täglich 0·1 grm Methylenblau (Merck); darauf wird 5 Tage pausirt. In dieser Weise wird er 2 Monate behandelt. Recidiv ist nicht wieder eingetreten. Patient ist völlig gesund. Ende September 1898 nach Ostafrika zurückgekehrt.

Fall 4. War etwa 2 Jahre in Transvaal. Bald nach seiner Ankunft daselbst erkrankte er an Fieber. Dasselbe wiederholte sich sehr häufig, so

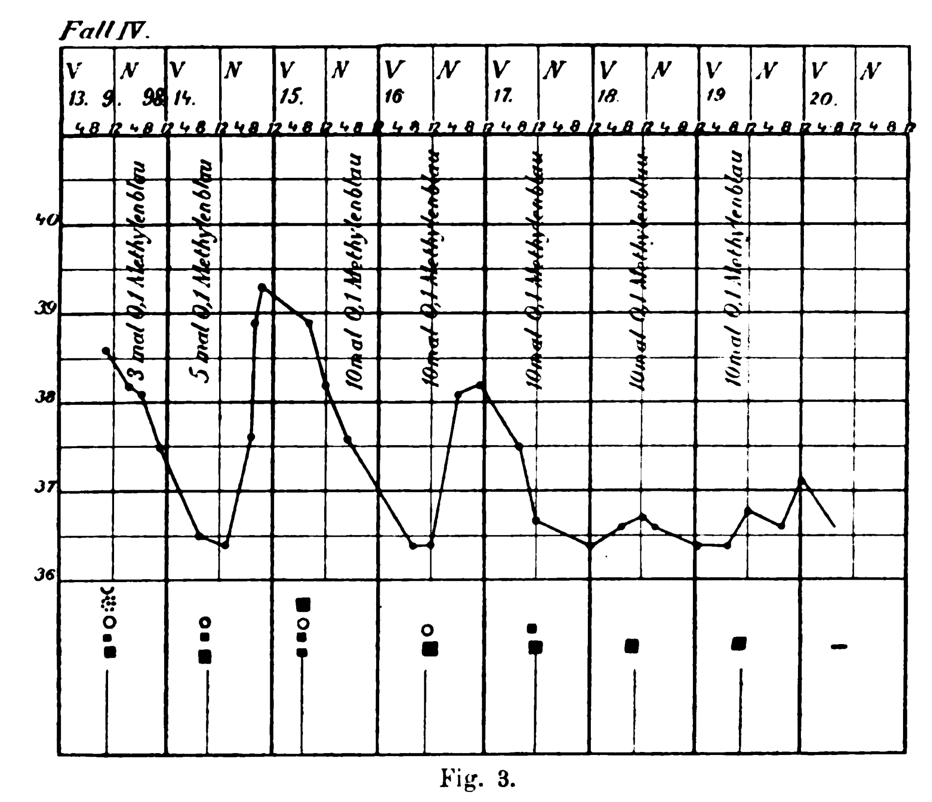


Fig. 3.

dass er nach Deutschland zurückkehren musste. Er will ohne Erfolg mit grossen Chinindosen, bis zu 3·0 grm pro Tag, behandelt worden sein. In

der letzten Zeit beobachtete er, dass sein Urin bereits nach 0·5 grm Chinin, welche Dosis er jetzt nahm, eine dunkle, in's Röthliche schimmernde Farbe annahm.

13. IX. Patient kommt mit 38·6° Temperatur zur Untersuchung.

Im Blute: Einzelne Tertiansporulationsformen, grosse Ringe, mittelgrosse und ausgewachsene Tertianparasiten, 1 Halbmond.

Diagnose: M. tertiana duplex und M. tropica.

Ordination: 3 Mal 0·1 grm Methylenblau (Merck).

14. IX. Blutbefund: Wenige grosse Ringe, wenige halb erwachsene Tertianparasiten und vereinzelt erwachsene.

Gegen Abend unter Schüttelfrost Fieberanfall.

Ordination: 5 Mal 0·1 grm Methylenblau.

15. IX. Blutbefund: Mässig viele halb erwachsene Tertianparasiten, wenige grosse Ringe und erwachsene Tertianparasiten.

Ordination: Täglich 10 Mal 0.1 grm Methylenblau.

16. IX. Blutbefund: Wenige grosse Ringe und ganz erwachsene Tertianparasiten.

17. IX. Blutbefund: Wenige halb und ganz erwachsene Tertianparasiten.

18. und 19. IX. Noch wenige erwachsene Tertianparasiten.

20. IX. Blutbefund negativ.

Patient hat sich sehr erholt, Kräftezustand hat sich gebessert. Entlassen mit der Anweisung, abwechselnd 5 Tage lang je 1·0 grm Methylenblau zu nehmen und 5 Tage auszusetzen. Trotzdem stellten sich in den Pausen bald Recidive ein, die jedes Mal mit Methylenblau unterdrückt wurden, bis nach 3 Monaten das Mittel völlig versagte, so dass zum Chinin gegriffen werden musste, welches auch gut vertragen wurde.

Blutuntersuchungen konnten in den Recidiven nicht gemacht werden, da Patient abwesend war und Präparate nicht eingeschickt wurden.

Fall 5. War $2^1/_2$ Jahre in Deutsch-Ostafrika. In den letzten beiden Jahren seines Aufenthaltes dort kein Fieber. Auf der Rückreise nach Deutschland auf dem Dampfer, nachdem mehrere Tage seit der Abfahrt aus Dar es Salaam verflossen waren, Fieber. Zwei Anfälle in zwei auf einander folgenden Tagen. Blutuntersuchung nicht möglich. Behandlung mit Chinin. Um Recidiv zu verhüten, 5 Wochen lang jeden 5. Tag 1·0 grm Chinin. Trotzdem bald nach Aussetzen desselben Fieberanfall.

Diagnose nach dem Blutbefunde: M. tertiana.

Behandlung mit Chinin. Nach dem Verschwinden der Parasiten und dem Abfalle der Temperatur etwa 2 Monate lang jeden 5. Tag 1·0 grm Chinin, um ein Recidiv zu verhüten.

8 Tage nach dem Aussetzen des Chinins, am 2. VIII. 1898, Schmerzen in den Gliedern und Abgeschlagenheit. Sofortige Untersuchung des Blutes ergiebt sehr wenige grosse Ringe.

Diagnose: M. tertiana (Recidiv).

3. VIII. Wohlbefinden. Blutbefund: Einzelne mittelgrosse und erwachsene Tertianparasiten.

Ordination: 10 Mal 0.1 grm Methylenblau (Merck).

4. VIII. Parasitenbefund (s. Curve).



Um 12 Uhr Mittags Frösteln, Unbehagen, dumpfer Schmerz im Kreuze und den Extremitäten, bald darauf Schüttelfrost, später Hitze und Schweiss

Ordination: 6 Mal 0·1 grm Methylenblau.

5. VIII. Wohlbefinden.

Ordination: 6 Mal 0·1 grm Methylenblau.

6. VIII. Mässige Schmerzen in den Gliedern.

Ordination: 10 Mal 0·1 grm Methylenblau.

Methylenblau noch mehrere Tage fortgesetzt, bis im Ganzen 10·0 grm verbraucht sind.

Am 30. VIII. und 1. IX. je ein Fieberanfall. Blutuntersuchung nicht möglich. Wird mit Chinin behandelt, da am Orte seines damaligen Aufenthaltes kein Methylenblau zu beschaffen war. Nach Genesung 14 Tage lang jeden 4. Tag 1·0 grm Chinin, dann 6 Wochen lang dieselbe Dosis jeden 5. Tag. Trotzdem 10 Tage nach Aussetzen des Chinins am 9. XI. Recidiv.

9. XI. Unbehagen, dumpfe Schmerzen in den Extremitäten. Blutuntersuchung ergiebt ein negatives Resultat.

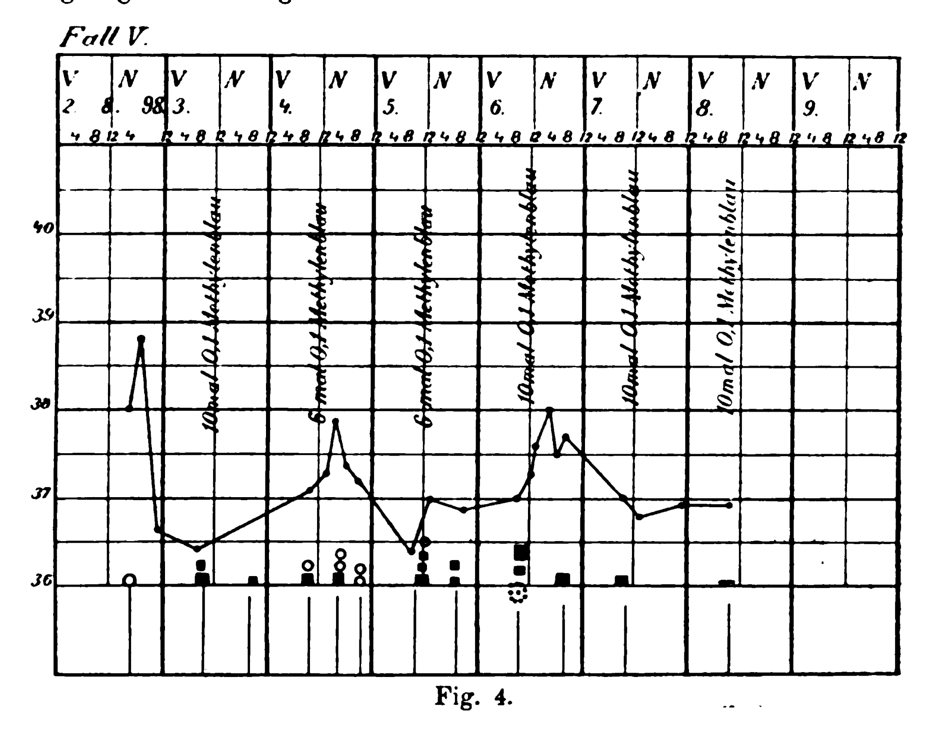


Fig. 4.

10. XI. Blutbefund: Wenige mittelgrosse Tertianparasiten. Hämoglobingehalt 92 Procent.

Diagnose: M. tertiana (Recidiv).

Ordination: 5 Mal täglich 0·2 grm Neu-Methylenblau.

11. XI. 10 Uhr Frösteln. Blutbefund negativ.

12. XI. Wohlbefinden. Blutbefund: Mässig viele mittelgrosse Tertianparasiten.

13. XI. Unter Frost und Erbrechen Temperatursteigerung. Blutbefund: Wenige grosse Ringe, ziemlich viele erwachsene Tertianparasiten. 2 Dosen à 0·2 grm Methylenblau erbrochen.

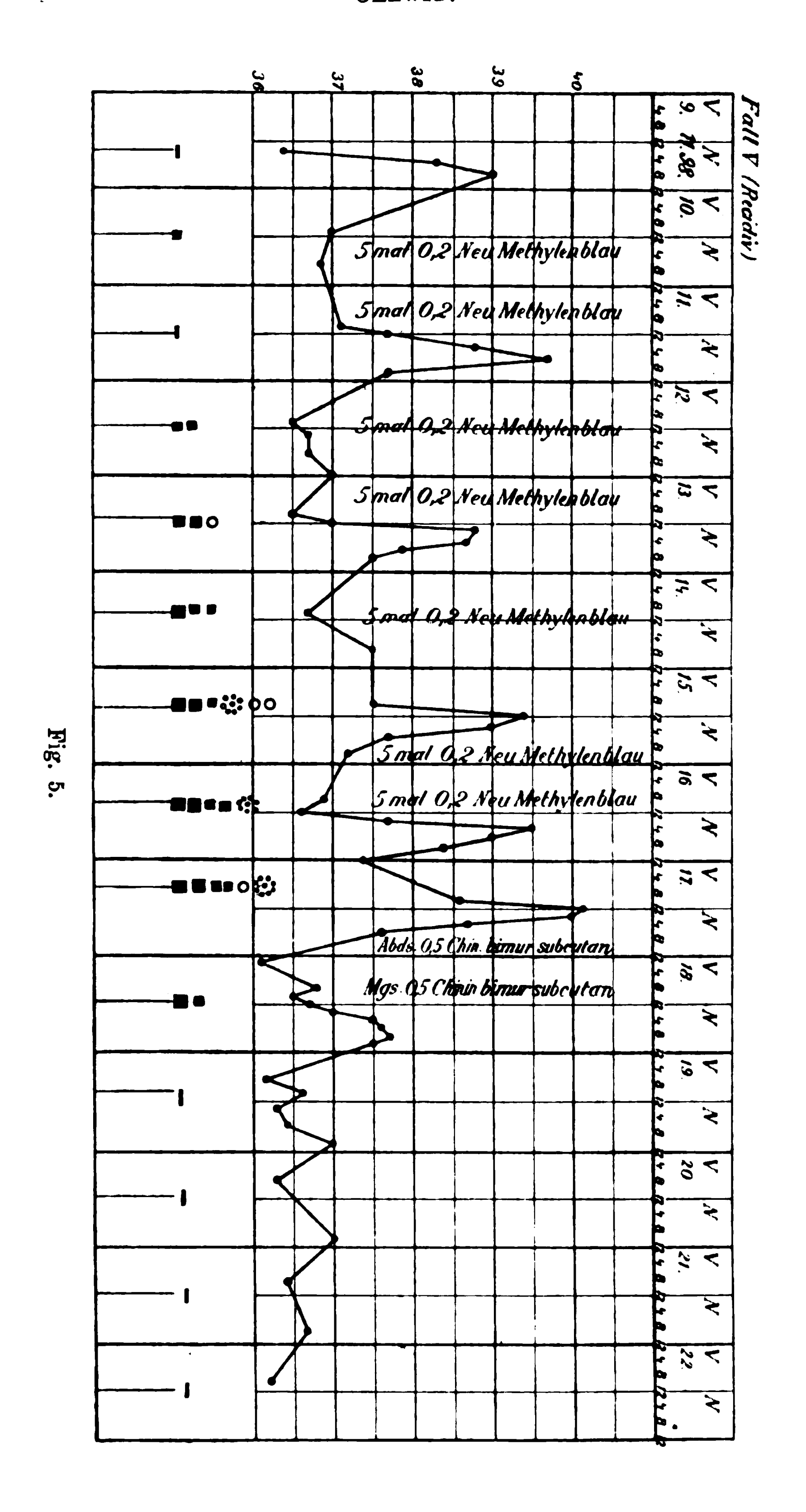

Fall V (Recidiv)
9. 11. 98.
10.
11.
12.
13.
14.
15.
16
17.
18.
19.
20
21.
22.
36
37
38
39
40
5 mal 0,2 Neu Methylenblau
5 mal 0,2 Neu Methylenblau
5 mal 0,2 Neu Methylenblau
5 mal 0,2 Neu Methylenblau
5 mal 0,2 Neu Methylenblau
5 mal 0,2 Neu Methylenblau
5 mal 0,2 Neu Methylenblau
Abds. 0,5 Chin. bimur subcutan
Mgs. 0,5 Chin. bimur subcutan

Fig. 5.

14. XI. Hämoglobingehalt 83 Procent.

Starker Darmkatarrh. 2 Dosen Methylenblau erbrochen.

Blutbefund: Ziemlich viele, halb erwachsene Tertianparasiten, wenige erwachsene.

15. XI. Sehr heftiger Durchfall. Stuhlgang blau verfärbt. Urin hat trotz Methylenblau eine hellere Farbe angenommen.

Blutbefund: Tertian-Sporulationsformen, grosse Ringe, halb und ganz erwachsene Tertianparasiten.

Diagnose: M. tertiana duplex.

2 Dosen Methylenblau erbrochen.

16. XI. Urin wieder dunkelblau gefärbt. Darmkatarrh, der nach Opiumtinctur etwas zurückgegangen war, wieder stärker.

Stuhl blau gefärbt. Methylenblau erbrochen.

Blutbefund: Einzelne Sporulationsformen, ziemlich viele, halb und ganz erwachsene Tertianparasiten.

17. XI. Methylenblau ausgesetzt.

Blutbefund: Einzelne Sporulationsformen und grosse Ringe, mässig viele halb und ganz erwachsene Tertianparasiten.

Abends 0·5 grm Chininum bimur. subcutan.

18. XI. Morgens 8 Uhr 0·5 grm Chin. bimur. subcutan.

Blutbefund 10 Uhr: Parasiten an Zahl bedeutend abgenommen, nur noch wenige halb und ganz erwachsene Tertianparasiten.

Vom 19. XI. ab Blutbefund negativ.

Weiterbehandlung mit Chinin.

Fall 6. Hatte während eines fast einjährigen Aufenthaltes in Kamerun sehr viel unter Fieber und 2 Mal an Schwarzwasserfieber, als dessen Ursache er Chinin angiebt, zu leiden. Krankheitshalber nach Deutschland gesandt, liess er sich in die Krankenabtheilung des Institutes aufnehmen, um von seinem Fieber, unter dem er in den letzten 14 Tagen wieder viel zu leiden hatte, sich heilen zu lassen.

30. X. Patient sehr anämisch, Schleimhäute blass. Er klagt über fast täglich gegen Abend auftretende Fieber, verbunden mit Schüttelfrost. Ferner klagt er über Schmerzen in der linken Bauchseite und sehr grosse Mattigkeit.

Sein Hämoglobingehalt beträgt 35 Procent. Milz reicht von der 5. Rippe in der Axillarlinie bis zur Spin. anter. super., sie nimmt fast die Hälfte des Abdomen ein.

Blutbefund: Zwei Generationen Tertianparasiten, also Tertiana duplex.

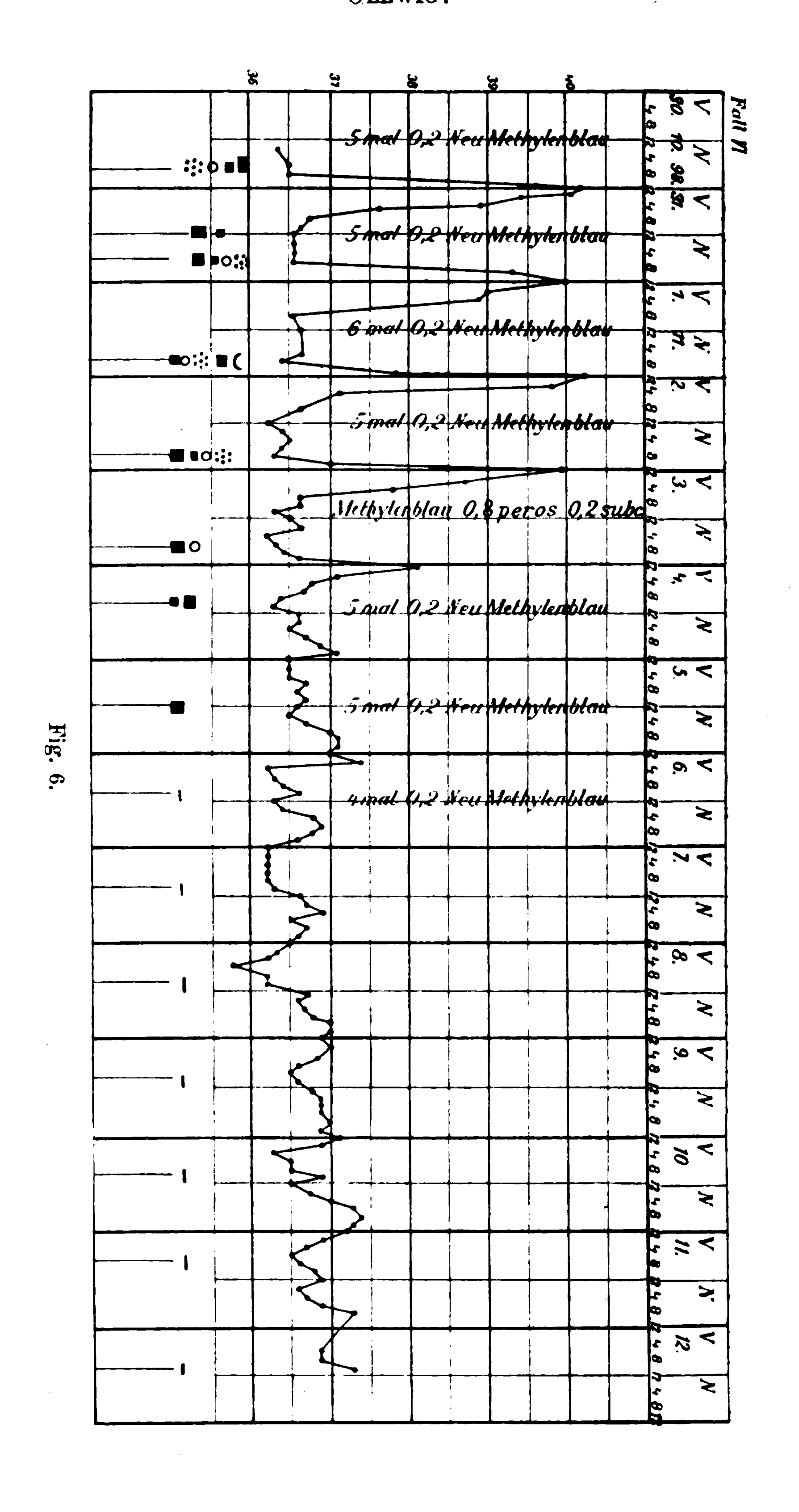
Patient erhält von Mittags 12 Uhr an stündlich eine Kapsel Neu-Methylenblau zu 0·2 grm, bis er 5 Kapseln genommen hatte. Nach der 2. Kapsel Uebelkeit, nach der 3. Erbrechen. Abends zwischen 8 und 10 Uhr gelinder Frost.

Blutbefund im Froste: Einzelne Tertian-Sporulationsformen, grosse Ringe, halb und ganz erwachsene Tertianparasiten.

31. X. Patient fühlt sich sehr matt. Methylenblau wie gestern. 2. Kapsel erbrochen. Nachmittags mehrere Male unwohl. In der Nacht leichter Schüttelfrost. Strangurie, dagegen Muscatnuss.

Blutbefund in den entsprechenden Tageszeiten wie gestern.





Fall II
5 mal 0,2 Neu Methylenblau
5 mal 0,2 Neu Methylenblau
6 mal 0,2 Neu Methylenblau
5 mal 0,2 Neu Methylenblau
Methylenblau 0,8 per os 0,2 subc
5 mal 0,2 Neu Methylenblau
5 mal 0,2 Neu Methylenblau
4 mal 0,2 Neu Methylenblau

Fig. 6.

1. XI. Wenig Appetit. Methylenblau 6 Mal 0·2 grm, davon 2 Kapseln erbrochen.

Im Blute ausser dem bisherigen Befunde ein Halbmond, also ausser Tertiana duplex noch M. tropica.

2. XI. Abends gelinder Schüttelfrost.

Blut im Schüttelfrost entnommen zeigt keine Verminderung und Veränderung der Parasiten. 5 Mal à 2 grm Neu-Methylenblau.

3. XI. Patient sehr matt, schläft viel und klagt über Appetitlosigkeit.

Abends etwas Unwohlsein. Methylenblau 0·8 grm per os, 0·2 grm subcutan. Parasitenbefund ist geringer geworden.

4. XI. Schmerzen beim Urinlassen haben nachgelassen.

Methylenblau 0·8 grm. Die Injectionsstelle am Vorderarm stark infitrirt und schmerzhaft.

Im Blute spärlich erwachsene und halb erwachsene Formen.

5. XI. Arm noch stark geschwollen und schmerzhaft.

Blutbefund: Spärlich erwachsene Tertianparasiten.

6. XI. Keine Parasiten im Blute.

Methylenblau 0·8 grm.

7. XI. Methylenblau ausgesetzt.

12. XI. Allgemeinbefinden bedeutend besser. Kräfte haben sehr zugenommen.

Milztumor um 7 cm zurückgegangen.

Hämoglobingehalt 72 Procent.

Wird auf seinen Wunsch entlassen.

Trotzdem er mit Pausen Methylenblau weiter nahm, stellten sich bald Recidive ein. Allerdings wurde ein grosser Theil des genommenen Methylenblaus wieder erbrochen. Eingesandte Blutpräparate, die am 7. XII. und 14. XII. entnommen waren, zeigten, dass es sich in den Recidiven um M. tropica handelte. Es wurde nun ein Versuch mit kleinen Chinindosen gemacht; dasselbe wurde jetzt gut vertragen.

Fall 7. (Keine Curve.) Während eines $2^1/_2$jährigen Aufenthaltes in Deutsch-Ostafrika hatte er viel unter Fieber zu leiden, ebenso während der Rückkehr und in Deutschland. Daselbst Mitte Juni 1898 Schwarzwasserfieber.

Im Blute nach demselben keine Parasiten nachweisbar. Methylenblaucur in der Weise, dass er abwechselnd 5 Tage 1·0 grm nimmt und 5 Tage aussetzt, bis 20·0 grm verbraucht sind.

Am 30. VII. und 13. VIII. eingesandte Blutpräparate ergeben als Untersuchungsresultate M. tropica.

Patient nach den 20·0 grm Methylenblau geheilt.

Fall 8. Patient war 13 Monate in Kamerun. Nach 4monatlichem Aufenthalte gelegentlich einer Expedition erstes Fieber, das über den nächsten Tag dauerte. Dasselbe wurde mit Chinin geheilt. Nach 14 Tagen wieder Fieber, das sich von jetzt ab alle 3 Wochen einstellte. Nach jedem Fieber nahm er 1·0 grm Chinin. Während einer Expedition bekam er $2^1/_2$ Stunden, nachdem er wegen Fiebers 1·0 grm Chinin genommen hatte, einen Schwarzwasserfieberanfall, der 2 Tage anhielt. In Folge dessen nahm er trotz fort-



gesetzten Fiebers kein Chinin mehr. Da die Fieberanfälle ihn in seinem Kräftezustande aber sehr herunterbrachten, machte er eines Tages einen Versuch mit 0·5 grm Chinin, worauf 2 Stunden später wieder Schwarzwasserfieber eintrat. Ein Versuch, mit 0·25 grm Chinin während seiner Heimreise nach Deutschland sein hartnäckiges Fieber zu bekämpfen, hatte wieder einen Schwarzwasserfieberanfall zur Folge. Von da an nahm er trotz vieler Fieber kein Chinin mehr.

Am 22. II. 1899 wurde er in's Institut behufs Blutuntersuchung gesandt.

Patient sieht anämisch aus, Schleimhäute sind blass. Leber vergrössert (bis 5 Finger breit unterhalb des Rippenbogens bis zur Mitte zwischen Nabel und Schwertfortsatz), ebenso Milz (Axillarlinie zwischen der 8. Rippe und Rippenbogen, vordere Grenzen bis 3 Finger breit von der Mittellinie).

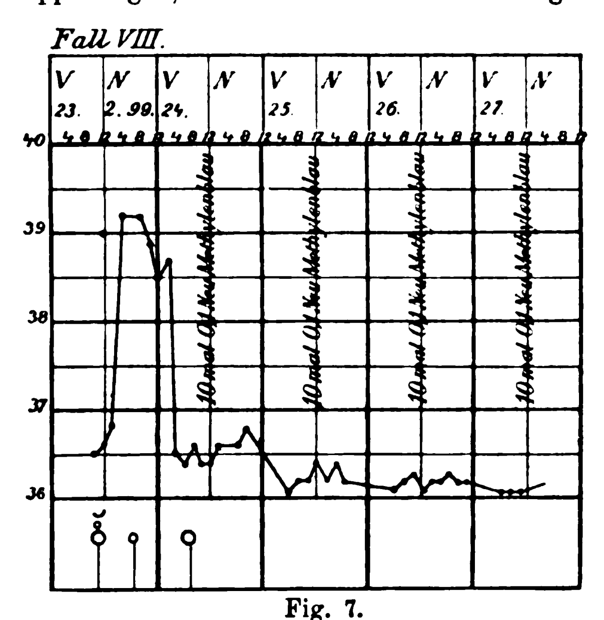


Fig. 7.

Im Urin kein Eiweiss und Zucker.

Hämoglobingehalt 70 Procent. Temperatur 36·6°.

Blutbefund: Vereinzelte mittelgrosse und grosse Ringe.

Diagnose: M. tropica.

Pat. wird in die Krankenabtheilung des Institutes aufgenommen.

23. II. Blutbefund 11 Uhr: Wenige grosse u. kleine Ringe, ein Halbmond. Um 11 Uhr erhält Patient 0.1 grm Chin. sulfur. Um 2 Uhr 45 Min. Schüttelfrost. Schmerzen in der Lebergegend, Urin blutroth. Icterus. Hämoglobingehalt 60 Procent.

Blutbefund $5^3/_4$ Uhr: Spärlich kleine und mittelgrosse Ringe. Die Parasiten haben seit dem Morgen nicht abgenommen.

24. II. Die Leberschwellung ist zurückgegangen, Milz dagegen vergrössert (ragt 2 Finger breit über die Mittellinie hinaus).

Im Urin Eiweiss, kein Hämoglobin.

Im Blute wenige grosse Ringe.

Patient erhält täglich 10 Mal 0·1 grm Neu-Methylenblau in Glutoidkapseln.

25. II. Vorderer Rand der Milz 1 Finger breit links vom Nabel fühlbar.

Im Blute keine Parasiten mehr.

26. II. Urin tiefblau gefärbt. Keine Dysurie, keine Appetitlosigkeit. Milz als harter Tumor bis zum Nabel fühlbar. Leber nach Druck empfindlich.

Urin: Albumenfrei.

28. II. Patient wird auf seinen Wunsch entlassen mit dem Rathe, täglich 1·0 grm Methylenblau zu nehmen, bis 20·0 grm verbraucht sind, dann abwechselnd 10 Tage Arznei zu nehmen und 10 Tage auszusetzen. Die Methylenblaucur soll sich über 3 Monate erstrecken.

Bis 20. III. war Patient recidivfrei.



Fig. 8.

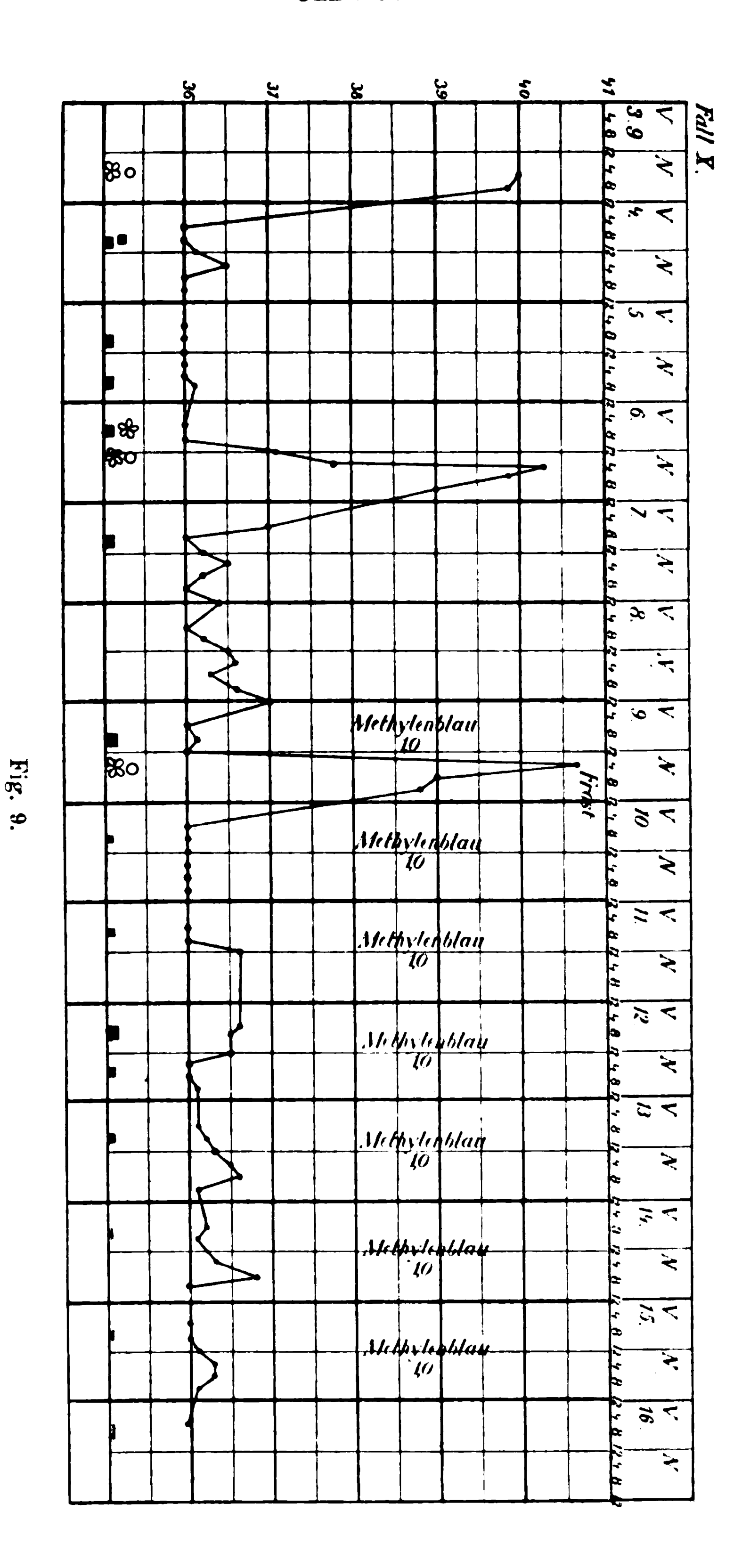


Fig. 9.

Fall 9. (Rom.) **M. tropica.** (Siehe Curve).

Fall 10. (Rom.) **M. quartana.**

Hat Fieber seit 13 Monaten, ist bereits 10 Mal in Krankenhäusern mit Chinin behandelt worden, ohne gesund geworden zu sein. In den letzten Wochen stets alle 3 Tage Fieber. Nach seiner Entlassung am 16. IX. 1898 ist er noch bis zum 27. X. weiter beobachtet und gesund befunden worden.

In unseren Fällen brachten wir Anfangs das chemisch reine, chlorzink- und arsenfreie Methylenblau von Merck, später Neu-Methylenblau (salzsaures Diäthyltoluthionin) mit der chemischen Constitution:

CH_3 CH_3—CL

S

C_2H_5NH $NH . C_2H_5$,

N

welche von Casella zur Verfügung gestellt wurde, in Anwendung.

Verabreicht wurde das Mittel in Einzeldosen zu 0·1 und 0·2 ^{grm} theilweise in Glutoidkapseln, theilweise in Pillen nach der von Beck angegebenen Form (Methylenblau + Pulv. nuc. moschat., Mic. panis $\overline{aa}$). Einen Vorzug der einen vor der anderen Verordnungsweise haben wir nicht beobachtet. Subcutan haben wir es einmal versuchsweise angewendet, jedoch diese Verordnungsweise als unzweckmässig und lästig (Schwerlöslichkeit des Methylenblau, schmerzhafte Infiltrationen an den Injectionsstellen) aufgegeben.

Die anfängliche Tagesdosis von 0.5 ^{grm} schien zur gewünschten Wirkung nicht stark genug zu sein, wir gaben daher bald 1·0 ^{grm} pro die und gingen nur aus besonderen Gründen (unangenehme Nebenerscheinungen) von dieser Dosis herunter.

Im Allgemeinen wurde das Mittel gut vertragen. Zwar stellten sich zuweilen im Anfange der Behandlung unangenehme Nebenerscheinungen, bestehend in Harndrang, Brennen in der Harnröhre und leichte Incontinentia urinae ein, diese Beschwerden wurden jedoch durch reichliches Einnehmen von geriebener Muscatnuss beseitigt. Dasselbe konnte in der Regel bald entbehrt werden, da die Kranken im Laufe der Zeit sich an das Mittel gewöhnten und dann dasselbe ohne Beschwerden ertrugen. Seitdem wir das Neu-Methylenblau in Anwendung bringen, haben die angeführten Nebenerscheinungen entschieden nachgelassen, so dass wir in dieser Hinsicht diesem Präparate den Vorzug geben.

Uebelkeit stellte sich zuweilen ein, Erbrechen trat dagegen seltener auf. In manchen Fällen konnten wir als Ursache desselben eine unzeitgemässe Verabreichung feststellen. Wir gaben nämlich Anfangs nach dem

Beispiele anderer Autoren die Tagesdosis nach Belieben über den ganzen Tag vertheilt, ohne Rücksicht darauf, ob zur Zeit der Einnahme Fieber bestand oder nicht. Diese Verabreichung ist entschieden eine unzweckmässige, da bei einem Fieberanfalle an und für sich schon Neigung zum Erbrechen besteht, das während dieser Zeit gegebene Methylenblau in Folge dessen leicht erbrochen wird und die intensiv blaue Farbe des Erbrochenen die Kranken leicht mit Widerwillen gegen das Mittel erfüllt. Aus diesem Grunde gaben wir schliesslich das Medicament möglichst in der fieberfreien Zeit, oft die ganze Tagesdosis innerhalb einiger Stunden, und wir können die Verabreichungsmethode nach unseren Erfahrungen nur empfehlen.

Störungen von Seiten des Darmes kamen nicht zur Beobachtung. Wenn im Beginn der Behandlung ein Darmkatarrh besteht oder im Laufe derselben ein solcher auftritt, empfiehlt es sich, denselben erst zur Heilung zu bringen, bevor mit der Methylenblaudarreichung begonnen oder mit derselben fortgefahren wird, da, wie Fall 5, der am Anfange der Behandlung schon am leichten Darmkatarrhe litt, zeigt, der Durchfall sich derartig verschlimmern kann, dass das Methylenblau grössten Theils unresorbirt den Darm passirt. Dass letzteres hier der Fall war, lässt sich aus dem Umstande folgern, dass während der Cur der bisher intensiv blaue Urin eine hellere, fast normale Farbe annahm, die Darmentleerungen dagegen ganz dunkelblau gefärbt waren.

Der Urin färbt sich bald. Anfangs grün, nimmt er bald eine tief dunkelblaue Farbe an, um nach dem Aussetzen des Mittels innerhalb 2 bis 3 Tagen wieder seine normale Farbe anzunehmen.

Eiweiss wurde nie im Urin gefunden. Im Gegentheil kam der im Falle 8 nach dem Schwarzwasserfieberanfalle auftretende Eiweissgehalt während der Methylenblaubehandlung bald zum Schwinden.

Was nun die Einwirkung des Methylenblaus auf den Fieberverlauf und die Malariaparasiten anbelangt, so können wir uns den äusserst günstigen Beurtheilungen derjenigen Autoren, welche das Mittel als Antimalaricum dem Chinin als ebenbürtig an die Seite oder gar über dasselbe stellen, nicht anschliessen, wenn wir auch weit davon entfernt sind, die pessimistischen Anschauungen Anderer, welche ihm jeden therapeutischen Werth absprechen, zu theilen. Ein therapeutischer Einfluss ist unverkennbar. Man sehe sich vor Allem den Fall 2 an. Schon nach Verabreichung von 0·8 ^{grm} Methylenblau trat kein neuer Anfall mehr auf, während die Parasiten langsam aus dem Blute schwanden. Von einer Spontanheilung kann bei diesem Kranken gar keine Rede sein, dagegen spricht nicht nur der einmalige kurze Fieberanfall, sondern vor Allem auch das Fehlen von Halbmonden im Blute, vor deren Auftreten eine tropische Malaria nie



spontan heilt. Der gänzliche Misserfolg im Falle 5 (Recidiv), in dem trotz Methylenblau die Parasiten und die Fieberanfälle zunahmen, so dass schliesslich aus der einfachen Tertiana eine doppelte sich entwickelte, kann nicht einer mangelhaften Wirkung des Methylenblaus zugeschrieben werden, da, wie wir schon oben nachgewiesen haben, dasselbe überhaupt nicht oder wenigstens nicht in genügenden Mengen zur Resorption gelangt sein kann.

Bei allen übrigen Fällen aber können wir, wie im Falle 2, die Beobachtungen von Guttmann und Ehrlich, Parenski und Blatteis und Werner Roettger bestätigen, dass die Temperatur bald nach dem Beginne der Methylenblaucur heruntergeht, während die Parasiten langsamer aus dem Blute schwinden. Unsere Curven erhärten diese Behauptung. Unsere frühere Ansicht, als wir die ersten Beobachtungen mit dem Methylenblau machten, dass dasselbe nur antitoxisch auf die Fieber erregenden Umsatzproducte der Parasiten wirke, die letzteren dagegen gar nicht beeinflusst würden, sondern spontan zu Grunde gingen, haben wir auf Grund unserer Untersuchungen bald dahin geändert, dass die Parasiten morphologisch durch Methylenblau zwar nicht verändert werden, ein hemmender Einfluss auf die Sporulation aber stattfinden muss; denn wie soll man sich sonst anders die schnelle Abnahme der Zahl der Parasiten erklären.

Auch aus diesem Grunde würde es sich empfehlen, das Methylenblau in derselben Weise wie Chinin, nämlich in der fieberfreien Zeit, zu geben.

Wie verhält sich nun das Methylenblau gegenüber den Recidiven?

Cardamitis führt von 275 beobachteten Fällen 38 Rückfälle an, bei den 35 Patienten von Parenski und Blatteis traten 5 Recidive auf, Werner Roettger hat von seinen 7 Fällen einen mit Rückfall zu verzeichnen und die beiden von Guttmann und Ehrlich mit Methylenblau behandelten Kranken sind dauernd gesund geblieben.

Unsere Resultate sind nicht so günstig, trotzdem wir im Allgemeinen bedeutend grössere Dosen in Anwendung brachten.

Fall 5 können wir insofern nicht mitrechnen, als bei ihm aus Versehen im Ganzen nur 10·0 ^{grm} Methylenblau genommen wurden, eine entschieden viel zu kleine Dosis, um ein Recidiv zu verhüten. Den sehr günstigen Erfolgen in den Fällen 1, 2 und 3, welche in $6^1/_2$, $7^1/_2$ und 3 Monaten keinen Rückfall aufzuweisen hatten und die wir wohl als endgültig geheilt betrachten können, stehen die ungünstigen Resultate der beiden Fälle aus Rom (9 und 10), die einige Zeit nach Aussetzen des Methylenblaus, wie uns mitgetheilt wurde, Rückfälle bekamen, gegenüber und vor Allem die Fälle 4 und 6, bei denen sich sogar während der Methylenblaucur Rückfälle einstellten. Bei diesen beiden Kranken



handelte es sich allerdings um Mischinfectionen, die naturgemäss jeder Behandlung besondere Schwierigkeiten bieten müssen.

Fall 6 können wir deshalb nicht mitzählen, weil wir ihn schliesslich aus den Augen verloren haben, im Falle 8 ist nach einem Monate noch kein Recidiv eingetreten, die Zeit ist aber noch zu kurz, um ein endgültiges Urtheil abzugeben.

Es stehen also als Endresultat 3 günstigen 4 ungünstige Erfolge gegenüber, ein Resultat, welches uns zu dem Urtheile berechtigt, dass das Methylenblau auch, was die Verhütung von Recidiven anbelangt, dem Chinin als nicht gleichwerthig an die Seite gestellt werden kann. Zwar treten nach Chinin auch häufig Rückfälle auf, wenn es nicht über einen genügend langen Zeitraum gegeben wird, aber ein Recidiv während einer Chinincur, wie sie in den Fällen 4 und 6 mit Methylenblau auftraten, ist so gut wie ausgeschlossen, vorausgesetzt, dass dasselbe in der richtigen Dosis und zur rechten Zeit gegeben wird und der Magen nicht etwa alkalisch reagirt, in welchem Falle es nicht zur Resorption gelangt.

Leider ist das, was seinen therapeutischen Werth anbelangt, als idealstes Arzneimittel dastehende Chinin nicht so harmlos, als allgemein angenommen wurde. Nachdem Rob. Koch nachgewiesen hat, dass das gefürchtete Schwarzwasserfieber in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle als reine Chininintoxication aufzufassen ist, muss das Streben aller Malariaforscher darauf gerichtet sein, einen Ersatz für das Chinin in allen den Fällen zu finden, wo die Disposition zu Schwarzwasserfieber die Verabreichung des Mittels contraindicirt. Von diesem Gesichtspunkte ausgehend brachten wir das Methylenblau in der Mehrzahl bei solchen Patienten zur Anwendung, welche diese Disposition zu Schwarzwasserfieber erlangt hatten und wird auch in Zukunft, so lange wir keinen besseren Ersatz für das Chinin haben, das Methylenblau als bestes Antimalaricum nach dem Chinin in solchen Fällen angewendet werden müssen.



[Aus dem hygienischen Institut zu Halle a./S.]

Beiträge zur Kenntniss der spontanen Milchgerinnung.

Von

Y. Kozai
aus Tokio.

Die Milchsäuregährung gehört zu den am frühesten bekannten Gährungen und ist schon seit langer Zeit von chemischer wie von bakteriologischer Seite Gegenstand eingehender Prüfungen gewesen. Die ersten genaueren chemischen Untersuchungen verdanken wir Pelouze und Gay-Lussac.[1] Bekanntlich stellte der Letztere, der grosse Neuerer auf dem Gebiete der Chemie, auch alsbald eine eigene Gährungstheorie auf, nach der der Sauerstoff als der Erreger der Gährung anzusehen sei, und diese ausbleibe, wenn dem Sauerstoff der Zugang abgeschnitten werde. Einem weiteren und besonders bedeutsamen Versuche, für die hier vorliegenden Erscheinungen eine ausreichende Erklärung zu finden, begegnen wir dann in der berühmten Gährungstheorie J. von Liebig's, die mit den schon mehr als hundert Jahre früher von Stahl vertretenen Anschauungen in vielen wesentlichen Punkten übereinstimmt. Die Gährung sollte darnach in erster Linie auf einer Uebertragung molekularer Bewegung von einem in Zersetzung befindlichen auf einen anderen locker aufgebauten Körper beruhen und der ganze Vorgang rein chemischer Natur sein. Diese Ideen hielten die Wissenschaft lange Zeit in ihrem Bannkreise und drückten auch den Vorstellungen über das selbstständige Gerinnen der Milch ihren entscheidenden Stempel auf. So glaubten z. B. Frémy und Boutroux,[2] dass das Caseïn der Erreger der Milchsäuregährung sei, eine Annahme, die A. P. Fokker[3] noch im Jahre 1889 in wenig veränderter

[1] *Annales de Chimie et de physique.* 1833. p. 410.
[2] *Compt. rend.* 1841. T. XII. p. 728.
[3] *Fortschritte der Medicin.* 1889. Nr. 11.



Form mit freilich geringem Erfolge aufzufrischen suchte. Rawlandson[1] sah im Sauerwerden der Milch einen Oxydationsprocess und verstieg sich bis zu der sonderbaren Anschauung, dass eine Kuh, die vor dem Melken viel umhergelaufen sei und deshalb grosse Mengen von Sauerstoff eingeathmet habe, eine an diesem Gase reichere und deshalb rascher gerinnende Milch liefere. So wunderlich und verschroben diese Ansichten uns heute erscheinen, so war doch Niemand im Stande, ihre Unhaltbarkeit nachzuweisen, so lange es nicht gelang, die Milch künstlich gegen den Eintritt der Gährung zu schützen, ohne ihre sonstige Beschaffenheit zu verändern, d. h. zu sterilisiren und damit eine sichere Grundlage, einen festen Ausgangspunkt für alle weiteren Beobachtungen zu schaffen. Diese Aufgabe wurde erst gelöst und zugleich die entscheidende Wendung in der ganzen Frage herbeigeführt durch die Arbeiten von Pasteur. Wie dieser Forscher die Existenz bestimmter niederster Lebewesen als unumgängliche Bedingung für das Zustandekommen der alkoholischen Gährung erkannt hatte, so fand er[2] als Erster auch, dass die Milchsäuregährung gleichfalls nur unter dem Einfluss gewisser, organisirter, belebter Erreger vor sich gehe. Er bezeichnete die hier wirksamen und für diese Art der Gährung charakteristischen Organismen als „ferment“ oder „levure lactique“ und Lister[3] glückte es dann später, mit seiner Verdünnungsmethode aus saurer Milch in der That ein solches Bacterium in Reincultur zu gewinnen, das er „Bacterium lactis“ nannte. Weiterhin war es dann besonders Hüppe,[4] der der Milchsäuregährung eingehendere Forschungen widmete und mit den verbesserten Hülfsmitteln der neuen Koch'schen Schule einen stäbchenförmigen Mikroorganismus isolirte, in morphologischer und biologischer Richtung des Genaueren untersuchte und beschrieb und als den allgemeinen Erreger der spontanen Milchgerinnung proclamirte. Anfangs glaubte man, in diesem Bacillus, der wahrscheinlich mit dem Lister'schen identisch ist, die alleinige Ursache der Milchsäuregährung gefunden zu haben. Später aber gelang es Hüppe[5] selbst, aus saurer Milch noch weitere Bakterien zu gewinnen, die ebenfalls Milchsäure aus Milchzucker abzuspalten vermochten. Diese Ergebnisse wurden später von mehreren Forschern bestätigt und erweitert. So fand z. B. G. Marpmann[6] in

[1] Lafar, *Techn. Mykologie.* I. S. 201.

[2] *Compt. rend.* 1857. T. XLX. p. 913.

[3] *Quarterly Journal of Microscopical Science.* 1873. Vol. XIII. p. 380. — 1878. Vol. XVIII. p. 117.

[4] *Mittheilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1884. Bd. II. S. 309.

[5] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1884. S. 777.

[6] *Ergänzungshefte zum Centralblatt für allgemeine Gesundheitspflege.* Bd. II. S. 117.



Göttinger Milch fünf verschiedene gährungserregende Bakterienarten, und zeigte, dass in einer und derselben Milch mehrere Organismen gleichzeitig an der Säuerung betheiligt sein können. G. Grotenfelt[1] züchtete aus finländischer Milch ausser anderen Mikrobien einen Milchsäure bildenden anaëroben „Streptococcus acidi lactici". A. P. Fokker[2] isolirte ausser einem Bacillus auch einen Milchsäure erzeugenden Mikrococcus, der mit dem von R. Krüger[3] aus käsiger Butter gezüchteten identisch zu sein scheint. Ausser diesen Bakterienarten ist uns aber eine ganze Reihe anderer Mikrobien bekannt, wie sie beispielsweise von Escherich,[4] Löffler,[5] Flügge,[6] Weigmann,[7] v. Freudenreich,[8] Adametz,[9] Kayser[10] u. A. beschrieben worden sind, die ebenfalls das Zuckermolekül unter Bildung von Milchsäure zu spalten vermögen und sich nicht selten in der Milch oder deren Producten vorfinden. Doch sei gleich bemerkt, dass unter den zahlreichen, in der Litteratur angeführten Mikroorganismen, die Milchsäure zu bilden befähigt sind, viele Arten mit der natürlichen Gährung der Milch kaum jemals etwas zu thun haben und deshalb nach einer von Scholl[11] herrührenden Unterscheidung im Gegensatz zu den specifischen höchstens als facultative Milchsäurebakterien bezeichnet werden können. Im Allgemeinen hat sich auf Grund der damit kurz beschriebenen Befunde wohl die Anschauung den meisten Eingang zu verschaffen gewusst, dass der Hüppe'sche Bacillus als der wichtigste und häufigste Erreger der spontanen Milchsäuregährung zu betrachten sei, dass aber noch mehrere Bakterien unter Umständen die gleiche Rolle spielen und sogar im Vordergrunde des genannten Ereignisses stehen können. Freilich hat es auch an Widerspruch und Einwendungen gegen diese Annahme nicht gefehlt, die namentlich die massgebende Bedeutung des Hüppe'schen Bacillus in Zweifel zogen. So berichtet G. Leichmann,[12] dass er in einer Anzahl von Milchproben, die

---

[1] *Fortschritte der Medicin.* 1889. Nr. 2 u. 4.

[2] Onderzoekingen omtrent melkzuurgisting. *Ned. Tijdschr. v. Geneesk.* 1890. S. 88 u. 509.

[3] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. VII. S. 425.

[4] *Darmbakterien des Säuglings.* Stuttgart 1886.

[5] *Berliner klin. Wochenschrift.* 1887. S. 631.

[6] *Diese Zeitschrift.* Bd. XVII. S. 272.

[7] *Landwirthsch. Wochenbl. für Schleswig-Holstein.* 1890. Nr. 29 u. 37.

[8] *Annales de Micrographie.* 1890. T. XI. p. 115. — *Centralblatt für Bakteriologie.* Abth. II. 1897. S. 231. — 1898. S. 170. — 1899. S. 243.

[9] *Landwirthschaftl. Jahrbücher.* 1889. S. 227.

[10] *Annales de l'Institut Pasteur.* 1894. p. 738.

[11] *Die Milch, ihre häufigeren Zersetzungen u. s. w.* Wiesbaden 1891.

[12] *Milchzeitung.* 1894. Nr. 33. — 1896. Nr. 5.



aus den verschiedensten Gegenden Deutschlands, sowie aus Stockholm und dessen Umgebung stammten, ausser sonstigen Bakterien nicht den Hüppe'schen, sondern einen anderen, von allen früher beschriebenen verschiedenen Organismus gefunden habe, eine Angabe, die dann auch von H. Weigmann[1] im Wesentlichen bestätigt wurde. Ebenso fand H. W. Conn[2] in amerikanischen Milchproben nur sehr selten den Hüppe'schen Bacillus, vielmehr vorzugsweise andere Bakterien, während freilich W. Esten[3] nach seinen, ebenfalls an amerikanischer Milch angestellten Untersuchungen wieder den Hüppe'schen Bacillus als den specifischen Erreger der gewöhnlichen Milchsäuregährung anspricht. Neuerdings gewannen ferner Günther und Thierfelder[4] aus spontan geronnener Milch eine bestimmte Bakterienart, die sterile Milch unter starker Säuerung zur Coagulation brachte und nach den beiden genannten Forschern mit dem Bacillus acidi lactici Hüppe's, nach der Ansicht von Leichmann[5] aber mit dem von ihm selbst früher beschriebenen Mikroorganismus in jeder Beziehung identisch und vom Hüppe'schen Milchsäurebacillus sicher verschieden ist. Wir werden auf diese wichtige Streitfrage später noch einmal zurückkommen.

Entbehrt demnach schon die bakteriologische Seite der Frage ohne Zweifel noch der nöthigen Sicherheit und Klarheit, so werden die Schwierigkeiten noch grösser, wenn wir unseren Blick auf das chemische Gebiet lenken. Bei der spontanen Gerinnung der Milch wird nach der allgemein herrschenden Ansicht die optisch inactive Form der Milchsäure gebildet. Dagegen fanden Günther und Thierfelder bei einer genauen Prüfung des von ihrem Milchsäurebacillus in steriler Milch erzeugten Productes, dass es sich stets um eine optisch active, und zwar die rechtsdrehende Modification der Aethylidenmilchsäure handele, und zu ganz dem gleichen Ergebnisse gelangte auch Leichmann[6] mit seinem Bacillus lactis acidi. Dieser Widerspruch ist ein so auffälliger, dass Günther und Thierfelder sich veranlasst sahen, die Beschaffenheit der spontan entstandenen Milchsäure einer nochmaligen sorgfältigen Untersuchung zu unterwerfen. Sie konnten hierbei aber nur bestätigen, dass meist die inactive Form oder eine Mischung von inactiver und Rechtsmilchsäure anzutreffen sei, und der Gegensatz zwischen den Resultaten der natürlichen und künstlichen Milchsäuregährung blieb also unaufgeklärt.

[1] *Milchzeitung.* 1896. Nr. 10 u. 11.
[2] Storr's *Agricultural Exp. Station IV annual Report.* p. 172.
[3] *Ebenda.* 1896. p. 44.
[4] *Archiv für Hygiene.* 1895. S. 164.
[5] *Milchzeitung.* 1896. Nr. 5.
[6] A. a. O.



Im Allgemeinen kommen wohl 3 Möglichkeiten in Betracht, die zur Lösung dieses Räthsels herangezogen werden können.

Einmal ist von Bedeutung, dass die Milch bei der Sterilisirung, die sie bei den Versuchen unterworfen wird, eine Reihe mehr oder weniger tiefgreifender Veränderungen erleidet, die sie von der unbehandelten, bei der natürlichen Gährung betheiligten unterscheiden. Die Natur dieser Umsetzungen ist trotz zahlreicher einschlägiger Forschungen im Einzelnen noch immer nicht mit Sicherheit bekannt. Nach einer jüngst von Wróblewski[1] veröffentlichten Studie bewirkt die Erhitzung in erster Linie eine Caramelisirung des Zuckers unter Bildung kleiner Mengen von Milchsäure und die Ausfällung der Hauptmenge des Albumins. Ferner ist es bekannt, dass dabei die Umwandelung einiger gelöster Calciumsalze in unlösliche Verbindungen stattfindet. Daneben wird bei längerer Erhitzung auf hohe Temperaturen auch das Caseïn angegriffen und peptonisirt, das Lecithin und Nucleïn, d. h. die phosphorhaltigen Bestandtheile zerstört u. s. w. Dass diese Vorgänge auch für die Entwickelung der in die Milch gelangenden Mikroorganismen nicht gleichgültig sein werden, liegt auf der Hand. Einmal ist nach allgemeinen physiologischen Gesetzen anzunehmen, dass das wirklich gelöste Eiweiss, also das Albumin für die Ernährung der Bakterien von grösserem Werthe ist als das nur gequollene oder locker suspendirte Caseïn und daher der Verlust des ersteren, seine Ueberführung in den ungelösten, geronnenen Zustand von nicht zu unterschätzendem Einfluss sein wird. Hiermit durchaus im Einklange steht die von verschiedenen Seiten, so von Richet,[2] Hüppe,[3] Fokker,[4] Scholl[5] u. A. ermittelte Thatsache, dass gerade die Milchsäurebakterien in eiweiss- oder phosphorsäurearmen Nährlösungen geringere Mengen von Milchsäure bilden, als in Substraten, die reicher an den eben genannten Stoffen sind. Nach den Untersuchungen von Kabrhel[6] und Timpe[7] kommt hier allerdings nicht nur die grössere oder geringere Nährfähigkeit der betreffenden Flüssigkeiten in Betracht, sondern namentlich auch eine directe chemische Wirkung, die das Caseïn, das Pepton und der Leim dadurch ausüben, dass sie die in der Culturflüssigkeit entstehende Säure binden und so den hemmenden Einfluss derselben auf das weitere Wachsthum der Mikroorganismen verzögern. Auf der anderen Seite aber ist natürlich die Zu-

---

[1] *Oesterreich. Chemikerzeitung.* 1898. Nr. 1.
[2] *Compt. rend.* 1878. T. LXXXVI.
[3] *Mittheilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1884. Bd. II. S. 309.
[4] *Fortschritte der Medicin.* 1887. Nr. 11.
[5] *Ebenda.* 1890. Nr. 2.
[6] *Allgemeine Wiener med. Zeitung.* 1889. Nr. 52 u. 53.
[7] *Archiv für Hygiene.* 1893. Bd. XVIII. S. 1.



sammensetzung des Nährbodens überhaupt wie in allen übrigen Fällen so auch hier von der erheblichsten Bedeutung für die Menge wie für die Art der von den Bakterien gelieferten Stoffwechselproducte. So fand, um nur die für unsere Aufgabe wichtigsten, hierher gehörigen Beobachtungen kurz zu streifen, Péré,[1] dass das Bacterium coli aus der Fructose unter sonst günstigsten Verhältnissen inactive Milchsäure, bei mangelhaften Ernährungsbedingungen dagegen Rechtsmilchsäure bildet, wie er glaubt, weil die inactive Form dann in ihre beiden Componenten zerspalten und die Linksmilchsäure von dem Bacterium verzehrt wird. In einer späteren Abhandlung stellte derselbe Forscher[2] fest, dass manche Colibacillen ein Gemisch der beiden isomeren Milchsäuren erzeugten, in dem die Rechtsmilchsäure jedoch um so reichlicher vertreten war, je vortheilhafter die übrigen Ernährungsbedingungen und ferner, dass bei einem Ueberschuss an Pepton überhaupt kein activer Körper auftrat. Ferner behauptete Kayser,[3] dass je nach den herrschenden Wachsthumsbedingungen auch ein und dasselbe Milchsäurebacterium aus einer gegebenen Zuckerlösung bald Rechts-, bald Linksmilchsäure zu bilden vermöge. Mit einem Milchsäure bildenden Bacillus kam Pottevin[4] zu demselben Resultate. Er fand nämlich bei seinen Versuchen, dass der Bacillus in einer Traubenzuckerlösung keine Rechtsmilchsäure bildete, wenn nur 0·3 Procent Pepton vorhanden war, während derselbe Bacillus in derselben Lösung, aber mit 0·5- bis 1·0 procentigem Peptongehalt inactive Milchsäure erzeugte. Neuerdings konnte Péré[5] seine früheren Ergebnisse abermals bestätigen und erweitern. Er stellte nämlich fest, dass der Colibacillus z. B. in einer Mannoselösung mit einem Zusatz von $^5/_{10000}$ Phenol reine Rechtsmilchsäure erzeugte, wenn die genügende Menge von Pepton (3^{gr} in 200^{ccm} Nährlösung) vorhanden war, während derselbe Mikroorganismus fast nur inactive Milchsäure, wenn der Peptongehalt auf $^1/_{10}$ vermindert war, und endlich reine Linksmilchsäure producirte, wenn an Stelle des Peptons Ammoniaksalze traten. Diese interessanten Beobachtungen, auf die wir später nochmals zurückkommen werden, lassen sich wohl nur dadurch erklären, dass entweder die Anfangs erzeugte inactive Milchsäure unter schlechten Wachsthumsbedingungen zerspalten und dann der eine ihrer beiden Componenten durch die Bakterien verzehrt wird, oder dass das Bakterienprotoplasma bei verschiedener Ernährungs-

[1] *Annales de l'Institut Pasteur.* 1892. p. 512.
[2] *Ebenda.* 1893. p. 737.
[3] *Ebenda.* 1895. p. 737.
[4] *Ebenda.* 1898. p. 50.
[5] *Ebenda.* 1898. p. 63.



weise auch wechselnde und in seiner Grundrichtung abweichende Leistungen äussert.

Nach alledem wird man die Annahme, dass die verschiedene chemische Zusammensetzung unbehandelter und sterilisirter Milch die auffällige Differenz in der Beschaffenheit der bei der Gährung entstehenden Stoffe bedingt, nicht ohne Weiteres von der Hand weisen dürfen und die Zulässigkeit dieser Hypothese noch genauer zu prüfen haben.

Aber daneben kommen auch noch andere Möglichkeiten in Betracht. Einmal konnte die Natur der von den Milchsäurebakterien gelieferten Producte Unterschiede zeigen, je nachdem diese Mikroorganismen sich in Reincultur oder im Verein mit sonstigen Spaltpilzen entwickelt haben. Wie wir wissen, finden sich in frischer Kuhmilch stets ausserordentliche Mengen der mannigfaltigsten Keime vor, zwischen denen weiterhin ein lebhafter Wettkampf beginnt. Wohl gehen aus diesem die Erreger der Milchsäuregährung als Sieger hervor, weil eben die gesammten Wachsthumsverhältnisse ihnen besonders günstig sind und namentlich die gebildete Milchsäure an sich das fernere Gedeihen der Concurrenten zu hemmen vermag. Aber bis dieses endliche Ergebniss erreicht ist, haben doch auch jene später unterdrückten Lebewesen reichliche Gelegenheit, sich zu vermehren und damit mehr oder minder erhebliche Veränderungen im Substrat hervorzurufen, die wieder für den Charakter der weiteren Umsetzung ernstliche Bedeutung gewinnen können.

Auch auf dem Gebiete der eigentlichen Gährung fehlt es deshalb nicht an Beispielen für die Erscheinung, dass Gemische verschiedener Mikrobien Processe erzeugen und Substanzen entstehen lassen, die keine dieser Arten für sich allein zu bilden vermag. So fand Nencki,[1] dass der Rauschbrandbacillus in Traubenzuckerlösung Kohlensäure, Wasserstoff, Normal-Buttersäure, Essigsäure und inactive Milchsäure, ein ebenfalls aus rauschbrandigem Material stammender Mikrococcus aber fast ausschliesslich Rechtsmilchsäure bildete. Wurden beide Mikroorganismen nun aber gemeinsam in der genannten Nährflüssigkeit gezüchtet, so verlief der Gährungsprocess erstens viel rascher und zweitens entstanden neben den oben genannten Stoffen noch ansehnliche Mengen des vorher nicht erzeugten Normal-Butylalkohols. Schreider[2] konnte feststellen, dass pyogene Streptokokken für sich allein, wie dies Sieber schon nachgewiesen hatte, die optisch inactive Milchsäure, in Mischculturen mit den Diphtheriebacillen dagegen reine Rechtsmilchsäure liefern. Verwandt mit diesen

[1] *Centralblatt für Bakteriologie.* 1892. Bd. XI. S. 225.
[2] *Ebenda.* 1892. Bd. XII. S. 289.



Beobachtungen sind auch diejenigen von Winogradsky,[1] sowie von Burri und Stutzer,[2] von denen jener fand, dass ein von ihm aus dem Boden isolirter Bacillus elementaren Stickstoff zu binden vermöge, aber nur in Gemeinschaft mit 2 anderen auch im Boden vorkommenden Mikroorganismen, während die beiden anderen Forscher nachweisen konnten, dass ihr Bacillus denitrificans I nur in Symbiose mit dem Bacterium coli commune den Salpeter unter Abspaltung von freiem Stickstoff zu zersetzen im Stande sei, eine Thatsache, die dann auch von Künnemann[3] bestätigt wurde.

Bieten die hier angeführten Beispiele der von uns erwähnten Annahme von der besonderen Wirksamkeit einer gemischten im Gegensatz zu derjenigen einer reinen Cultur gewiss eine gewichtige Stütze, so verlangt doch auch eine dritte und letzte Möglichkeit zur Erklärung der hier behandelten Differenz noch gebührende Beachtung: dass nämlich neben dem beschriebenen Rechtsmilchsäure bildenden Bacillus noch ein oder mehrere andere bisher übersehene Arten an der natürlichen Gährung betheiligt sein könnten, die entweder inactive oder Linksmilchsäure liefern und auch im letzteren Falle dann die Gährungsmilchsäure, die racemische Verbindung der beiden stereoisomeren Milchsäuren entstehen lassen. Dass es bestimmte Mikroorganismen giebt, die ausschliesslich die eine oder die andere isomere Form der Aethylidenmilchsäure liefern, ist, nachdem Nencki und Sieber[4] in ihrem Mikrococcus acidi paralactici einen ausgesprochenen Rechtsmilchsäurebildner erkannt, durch zahlreiche weitere, zum Theil auch schon erwähnte Untersuchungen zur Genüge festgestellt worden. Für die Linksmilchsäure gelang das zuerst Schardinger,[5] der bei einem aus Brunnenwasser gezüchteten Bacillus diese Fähigkeit entdeckte und das Bacterium daher auch mit dem Namen „Bacillus acidi laevolactici" belegte. Später begegnete man dem gleichen Vermögen dann noch bei einer ganzen Reihe anderer Mikroorganismen, so bei gewissen, auf Birnen gefundenen Arten (Tate[6]), bei verschiedenen Vibrionen (Kuprianow[7] und Gosio[8]), beim Typhusbacillus (Blachstein[9]) u. s. f., bei Bakterien also, die mit der natürlichen Milchgerinnung an sich nichts zu thun haben.

[1] *Compt. rend.* T. LXVIII. S. 353.

[2] *Centralblatt für Bakteriologie.* Abth. II. Bd. I. S. 257.

[3] *Landwirthschaftl. Versuchsstationen.* 1898. Bd. L. S. 65.

[4] *Monatshefte für Chemie.* 1890. Bd. XI. S. 545.

[5] *Ebenda.* 1890. Bd. XI. S. 545.

[6] *Journal of chemical Society Transactions.* 1893. S. 1263.

[7] *Archiv für Hygiene.* 1893. Bd. XIX. S. 282 u. 291.

[8] *Ebenda.* 1894. Bd. XXI. S. 114.

[9] *Archives de Sciences biol. publ. par l'Institut imp. de méd. expér. à St. Pétersbourg.* T. I. Nr. 1 u. 2.



Von ungleich grösserem Interesse gerade für die hier behandelte Frage sind deshalb Befunde, über die Leichmann[1] berichtet hat. Bei seinem Bestreben, den auffälligen Widerspruch zwischen den Ergebnissen der chemischen und der bakteriologischen Analyse spontan geronnener Milch aufzuklären, gewann er aus einer bei 44 bis 52° C. zur Coagulation gebrachten Probe zwei verschiedene Bakterienarten, von denen die eine, „Mikrococcus lactis acidi" genannt, Rechtsmilchsäure, die andere dagegen, der „Bacillus lactis acidi", Linksmilchsäure bildete. Spielen diese beiden Mikrobien nach der Ansicht von Leichmann die Hauptrolle bei der Gerinnung der Milch, die unter dem Einfluss hoher Temperaturen, also unter unnatürlichen Verhältnissen, von Statten geht, so hat derselbe Forscher in einer neuen Arbeit auch aus Proben, die bei gewöhnlicher Temperatur geronnen waren, gelegentlich einen Linksmilchsäure producirenden Mikroorganismus, einen Coccus nämlich, isolirt, dessen genauere Beschreibung freilich noch aussteht. Ohne Zweifel stellten diese Beobachtungen einen sehr werthvollen Beitrag zur Lösung des aufgeworfenen Problems dar. Aber der nöthigen Sicherheit und namentlich der allgemeinen Geltung entbehren doch auch sie noch. Denn der von Leichmann gefundene Linksmilchsäurebacillus soll, wie bemerkt, erst bei höherer Temperatur in Wirksamkeit treten, muss also für die spontane Gerinnung ausser Betracht bleiben, und für das Vorkommen seines Linksmilchsäurecoccus fehlen bisher noch weitere Beweise. Erwägt man ferner die schon früher erörterte Thatsache, dass Leichmann auf Grund seiner Untersuchungen neben einem Coccus auch als den hauptsächlichsten Erreger der gewöhnlichen Milchsäuregährung nicht den von Hüppe beschriebenen Bacillus acidi lactici, sondern ein von diesem Mikroorganismus sicher verschiedenes, „Bacterium lactis acidi" genanntes Stäbchen anspricht und sich damit in bewussten Gegensatz zu der landläufigen und üblichen Anschauung stellt, so wird man gewiss zugeben müssen, dass die ganze, ungemein wichtige, in theoretischer und praktischer Beziehung gleich bedeutsame Frage vom Wesen der natürlichen Milchgerinnung von ihrer endgültigen Beantwortung immer noch weit entfernt ist.

Gerne bin ich deshalb auch auf den Vorschlag des Hrn. Prof. Dr. C. Fränkel eingegangen, diesen Gegenstand einer erneuten sorgfältigen Prüfung vom chemischen und bakteriologischen Gesichtspunkte aus zu unterwerfen und den Versuch zu machen, die bestehenden Lücken auszufüllen. Ich möchte bei dieser Gelegentheit nicht versäumen, Hrn. Prof. Dr. C. Fränkel für die liebenswürdige Anleitung und Unterstützung bei

[1] *Milchzeitung*. 1896. S. 65.



dieser Arbeit meinen verbindlichsten Dank auszusprechen. Ebenso bin ich Hrn. Privatdocent Dr. G. Sobernheim und Hrn. Dr. M. Klostermann, Assistenten am Institut, für ihre freundlichen Rathschläge zum grössten Dank verpflichtet.

I. Natur der bei der spontanen Milchgerinnung gebildeten Milchsäure.

Die Untersuchung der bei der freiwilligen Gerinnung der Milch gebildeten Milchsäure geschah in der üblichen, auch von Günther und Thierfelder[1] benutzten Weise. Nachdem die Milch (und zwar meist 1 Liter) unter den gebräuchlichen Vorsichtsmaassregeln entweder bei Zimmer- oder bei Brüttemperatur zur Gerinnung gebracht worden war, wurde sie durch ein Faltenfilter gegossen und letzteres mit kaltem Wasser mehrere Male gewaschen. Dann wurde das Filtrat auf dem Wasserbade zur Trockne eingedampft, der Rückstand mit Phosphorsäure stark angesäuert und mit Aether ausgeschüttelt. Nachdem der Aether abdestillirt war, verblieb ein syrupartiger, gelbgefärbter Rückstand, der dann in heissem Wasser gelöst und filtrirt wurde. Das Filtrat wurde mit Zinkcarbonat gekocht und abermals filtrirt. Nachdem diese Lösung auf dem Wasserbade genügend eingeengt war, wurde sie in einem Exsiccator zur Krystallisation gebracht. Das auskrystallisirte, mehr oder weniger farblose Zinklactat wurde zwischen Filtrirpapier getrocknet, dann in wenig heissem Wasser gelöst und über concentrirter Schwefelsäure umkrystallisirt. Das bei der zweiten Krystallisation erhaltene Zinksalz, das meist die genügende Reinheit für die Zwecke der weiteren Analyse besass, wurde wieder zwischen Filtrirpapier gepresst, und dann über starker Schwefelsäure von den letzten Resten des anhaftenden Wassers befreit. Zur polarimetrischen Untersuchung ist eine möglichst farblose Lösung des Salzes erforderlich, da die Drehung des Zinksalzes an sich nicht besonders stark ist. Das völlig lufttrockene Zinksalz wurde dann sowohl auf seinen Krystallwasser- und Zinkgehalt, als auch auf sein Verhalten gegen polarisirtes Licht geprüft. Lufttrockenes inactives Zinklactat verliert beim Erhitzen auf 110° C. 3 Moleküle Krystallwasser = 18·18 Procent, während lufttrockenes, actives Zinksalz bloss 2 Moleküle = 12·9 Procent abgiebt. Das Gehalt an Zinkoxyd des wasserfreien Zinklactats beläuft sich auf 33·33 Procent.

Folgende Milchproben wurden nun in der oben erwähnten Weise untersucht.

[1] A. a. O.



1. Am 20. XI. 1897 wurde frische Milch (aus der Centralmolkerei Halle a/S.) in einem grossen Kolben bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen; am 24. XI. war die Milch geronnen.

2. Am 27. XI. wurde frische Milch (ebenfalls aus der Centralmolkerei) bei Zimmertemperatur aufgestellt; am 1. XII. war die Milch geronnen.

3. Am 3. XII. wurde frische Milch (aus dem hiesigen Landwirthschaftlichen Institut) bei Zimmertemperatur aufgestellt; am 7. XII. war die Milch geronnen.

4. Am 15. XII. wurde frische Milch (ebenfalls aus dem Landwirthschaftlichen Institut) bei Zimmertemperatur aufgestellt; am 20. XII. war die Milch geronnen.

5. Am 10. I. 1898 wurde frische Milch (ebenfalls aus dem Landwirthschaftlichen Institut) bei Zimmertemperatur aufgestellt; am 16. I. war die Milch geronnen.

6. Am 18. I. wurde frische Milch (aus der Molkerei Trotha) bei Zimmertemperatur aufgestellt; am 23. I. war die Milch geronnen.

7. Am 23. I. wurde frische Milch (ebenfalls aus der Molkerei Trotha) bei Zimmertemperatur aufgestellt; am 27. I. war die Milch geronnen.

Die chemische Untersuchung[1] der aus diesen Milchproben gewonnenen Säure ergab folgende Resultate.

Nr. der Milchproben	Gehalt des Zinklactats an: Krystallwasser Proc.	Zinkoxyd Proc.	Specifisches Drehungsvermögen des Zinklactats Grad
1	13·69	33·14	— 7·92
2	13·27	33·12	— 7·22
3	13·00	33·33	— 7·08
4	13·06	33·45	— 7·50
5	11·75	33·11	— 6·98
6	16·15	33·72	— 2·56
7	14·69	32·97	— 3·33

Aus den vorstehenden Untersuchungsergebnissen geht hervor, dass von 7 spontan geronnenen Milchproben 4 (Proben 1 bis 4) nur reine Rechtsmilchsäure enthielten, während die anderen 3 (Proben 5 bis 7) ausserdem mehr oder weniger ansehnliche Mengen von inactiver Milchsäure aufwiesen. Dieses Resultat steht nicht im Einklang mit dem von Günther und Thierfelder ermittelten, die in den meisten Fällen entweder inactive Milchsäure oder eine Mischung von inactiver

[1] Sämmtliche analytische Details werden am Schluss der Abhandlung in tabellarischer Form als Anhang beigefügt.



und Rechtsmilchsäure, und nur sehr selten reine Rechtsmilchsäure fanden.

Um diesen Widerspruch aufzuklären, haben wir eine Anzahl weiterer Milchproben bei verschiedenen Temperaturen zur Gerinnung gebracht. und zwar in folgender Weise. Sobald die Milch von der Verkaufsstelle in das Laboratorium gelangt war, haben wir sie nach gründlichem Umschütteln in 2 Theile zerlegt. Jeder (etwa 1 Liter) wurde dann in einen sterilisirten Glaskolben gegossen, und in diesem entweder bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen, oder in den Brütschrank, dessen Temperatur zwischen 36 und 39° C. schwankte, gebracht. Nach der Coagulation wurden die Milchproben in der üblichen Weise auf die Art der gebildeten Milchsäure untersucht. Es ergab sich Folgendes.

8. Am 14. III. 1898 wurde ein Theil (a) frischer Milch (aus der Centralmolkerei) bei Zimmertemperatur aufgestellt, ein anderer Theil (a') in den Brütschrank gebracht; am 18. III. war Probe a, am 16. III. Probe a' geronnen.

9. Am 19. III. wurde Milch (aus Molkerei Trotha) a bei Zimmer- und a' bei Brüttemperatur aufgestellt; am 23. III. waren die Proben a und am 21. III. a' geronnen.

10. Am 1. IV. wurden von den Milchproben (aus dem hiesigen Landwirthschaftlichen Institut) a bei Zimmer- und a' bei Brüttemperatur aufgestellt; am 5. IV. war die Probe a und am 3. IV. die Probe a' geronnen.

11. Am 10. IV. wurde ein Theil (a) frischer Magermilch (aus der Centralmolkerei) bei Zimmertemperatur aufgestellt, ein anderer Theil (a') in den Brütschrank gebracht; am 13. IV. war die Probe a und am 12. IV. die Probe a' geronnen.

Die Resultate der chemischen Untersuchung der isolirten Milchsäure sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Nr. der Milchproben		Gehalt des Zinklactats an: Krystallwasser Proc.	Zinkoxyd Proc.	Specifisches Drehungsvermögen des Zinklactats Grad
8	a	13·60	32·17	— 7·64
	a'	15·63	33·33	— 3·48
9	a	13·22	34·01	— 7·50
	a'	18·11	33·75	± 0
10	a	13·81	33·20	— 6·94
	a'	16·50	33·05	— 3·21
11	a	14·00	33·15	— 7·55
	a'	18·08	33·20	± 0

a = bei Zimmertemp. geronnene Milch. a' = im Brütschrank geronnene Milch.



Wir ersehen hieraus, dass die Gährungstemperatur einen entscheidenden Einfluss auf die Natur der entstehenden Milchsäure ausübt. In sämmtlichen Milchproben, die bei Zimmerwärme zur Gerinnung gekommen waren, fand sich entweder reine Rechtsmilchsäure vor, oder es liess sich nur ein kleiner Rest von inactiver, als racemische Modification aus der Verbindung mit Linksmilchsäure gebildeter Säure nachweisen. Im Gegensatz dazu enthielten die Milchproben, die bei Brüttemperatur zur Gerinnung gelangt waren, die Milchsäure entweder als reine optisch inactive racemische Form, oder sie zeigte wegen Mangels an Linksmilchsäure zugleich eine geringe Menge der rechtsdrehenden Abart. Die Bildung der Linksmilchsäure scheint also in sehr viel ausgiebigerem Maasse Statt zu haben bei höherer, als bei niedriger Temperatur. Diese auffällige Thatsache erklärt sich nach den weiteren bakteriologischen Untersuchungen dadurch, dass bestimmte Bakterien, die über die Fähigkeit verfügen, aus dem Zuckermolekül Linksmilchsäure abzuspalten, zwar regelmässig in der gewöhnlichen Kuhmilch vorkommen, aber nur bei Brütwärme in ihre energische Wirksamkeit treten. Wir werden weiterhin diesen Punkt noch genauer erörtern. Nur sei hier bemerkt, dass diese Befunde mit denen von Günther und Thierfelder nicht im Einklange stehen. Wie aus dem Versuchsprotocoll der genannten Autoren zu ersehen ist, bildete sich dort bei der spontanen Gerinnung entweder inactive oder rechtsdrehende Milchsäure unabhängig von der Temperatur.

II. Isolirung der Milchsäurebakterien aus spontan geronnenen Milchproben.

Das Ausgangsmaterial zur Isolirung der Milchsäurebakterien bildeten die sämmtlichen Proben, die dann auch der chemischen Untersuchung unterworfen wurden. Es wurden jedesmal von der spontan geronnenen Milch 3 Oesen, und zwar bei den ersten 7 Versuchen nur in die nach Vorschrift von Günther und Thierfelder[1] bereitete Milchzuckergelatine, bei den weiteren 8 Versuchen sowohl in diesen Nährboden, als auch in Traubenzuckeragar übertragen. Sowohl die Originalröhrchen, wie auch die weiteren Verdünnungen wurden darauf, nach dem zuerst von Beiyerinck[2] angegebenen, dann auch von Günther und Thierfelder empfohlenen Verfahren mit sterilem Calciumcarbonat gemischt, zu Platten ausgegossen und die letzteren unter Luftzutritt aufbewahrt.

[1] A. a. O.

[2] *Centralblatt für Bakteriologie.* 1891. Bd. IX. S. 781.

In den ersten 7 Versuchen, in denen nur die bei Zimmertemperatur geronnenen Milchproben zur Anwendung kamen, haben wir auf den Milchzucker-Kreideböden immer fast das gleiche Bild erhalten. Einige Tage nach Herstellung der Platten kamen zahlreiche Colonieen zur Entwickelung, welche sich dem blossen Auge als winzige, weisse, dem Mikroscop als leicht gelbgefärbte dichte Gebilde darboten, und die von einem verhältnissmässig breiten, durchsichtigen Säurediffusionsfeld umgeben waren. Im hängenden Tropfen zeigten sich die aus solchen Colonieen herstammenden Bakterien als kleine, an beiden Enden etwas zugespitzte, meist zu zweien angeordnete unbewegliche Stäbchen.

Auf den Gelatineplatten, welche mit den Milchproben 2, 6 und 7 beschickt worden waren, haben wir neben der eben beschriebenen häufigsten Form nun aber weiter auch noch scharf von ihr unterschiedene Colonieen beobachtet, die erheblich grösser als jene waren, dagegen ein sehr viel schmaleres Säurefeld besassen. Im hängenden Tropfen fanden sich ziemlich grosse, plumpe, unbewegliche Stäbchen, die selten zu zweien lagen. Diese und die erst genannte Art haben wir nun in Reincultur gebracht; der Einfachheit halber wollen wir jene, die häufigere, als I, und diese, die seltenere, als II bezeichnen.

Bei den späteren 8 Versuchen, in denen die theils bei Zimmer-, theils bei Brüttemperatur geronnenen Milchproben zur Anwendung gelangten, boten die mit den letzteren beschickten Gelatine-Kreideböden ein anderes Bild dar, als es vorher und auch jetzt bei den Platten der ersten Reihe zur Beobachtung gelangte: Bacterium II, das dort nur spärlich aufgekommen war, zeigte jetzt ein reichliches und häufigeres Wachsthum. Bei längerem Stehen der betreffenden Platten aber machten sich weiter Colonieen bemerklich, die die Gelatine in ihrer Umgebung verflüssigten und ein ganz schmales, aber doch deutlich erkennbares Säurediffusionsfeld besassen. Im hängenden Tropfen fanden sich massenhaft Kokken, die meist zu zweien angeordnet waren. Diese Bakterienform sei in eine dritte Gruppe verwiesen.

Besonders bemerkenswerth war das Verhalten der Traubenzuckeragar-Kreideböden, die mit den bei Brüttemperatur geronnenen Milchproben beimpft worden waren. Schon 24 Stunden nach Anfertigung der Platten erschienen auf der Oberfläche neben den winzigen Colonieen der Bakterien I eine Anzahl weisser Scheiben, deren Grösse die der ersten weit übertraf. Bei näherer Betrachtung stellte es sich aber alsbald heraus, dass man es hier wieder mit 2 verschiedenen Arten zu thun habe. Die einen erschienen als runde, fast homogene Gebilde mit porzellanähnlichem Glanz, die anderen dagegen als rundliche, nach der Mitte zu immer dicker werdende Auflagerungen von erheblichem Umfang, aber



ohne den dort bemerkten Glanz. Bei schwacher Vergrösserung zeigten jene eine gelbliche Körnung, diese ebenfalls eine gelbe Färbung, aber einen sehr viel lockereren Aufbau von häufig geradezu fadenartiger Structur. Die weitere Untersuchung ergab, dass die Colonieen des ersten Typus den Bakterien III, die des anderen den Bakterien II angehörten. Bemerkenswerth war, dass hier auf der Agarplatte die Kokkencolonieen einen ganz geringen, die Stäbchencolonieen aber überhaupt kaum einen Säurerand besassen. Es erklärt sich diese Erscheinung einmal daraus, dass die betreffenden Mikroorganismen in der kurzen Frist ihrer raschen Entwickelung auf diesem Nährboden nicht die erforderliche Zeit finden, um genügende Mengen von Säure zu produciren und so das Calciumcarbonat in ihrer Nachbarschaft aufzulösen, ausserdem aber noch aus der Thatsache, dass es sich hier vorzugsweise um ein reines Oberflächenwachsthum handelt, auf der Oberfläche des Substrats aber, wie Günther und Thierfelder schon hervorgehoben, die Kreide fehlt, die sich in den tieferen Schichten des Nährbodens ansammelt. So lassen selbst als starke Säurebildner bekannte Mikroorganismen in ihren oberflächlichen Colonieen den Säurering zuweilen vermissen, und so konnten wir andererseits auch bei unseren Bakterien das Diffusionsfeld an tieferen Colonieen vielfach wahrnehmen. Immerhin sei auf diesen Punkt, der besonders bei der Verwendung der Kreideagarböden zu Irrthümern führen kann, ausdrücklich hingewiesen.

Im Lauf unserer Versuche haben wir uns auf diese Weise 16 Stämme der ersten, 6 der zweiten und 6 der dritten Gruppe in Reincultur gezüchtet. Unsere wichtigste Aufgabe bestand nun weiter darin, das Verhalten dieser Bakterien in sterilisirter Milch einer sorgfältigen Prüfung zu unterziehen. Die hierbei erzielten Ergebnisse lassen sich in folgenden Sätzen zusammenfassen. Die kurzen, zugespitzten Stäbchen der ersten Gruppe brachten ohne Ausnahme sterile Milch bei Zimmertemperatur gewöhnlich innerhalb von 24 bis 36 Stunden unter starker Säurebildung zu vollkommener Gerinnung. Das dabei entstehende Coagulum war fest und gleichmässig und bewahrte auch bei längerem Stehen seine Consistenz. Die sämmtlichen Culturen der zweiten Gruppe, der die 6 Stämme der plumpen Stäbchen angehörten, erwiesen sich gleichfalls als Säurebildner, doch war diese ihre Fähigkeit in sehr viel geringerem Maasse, als bei den Bakterien I entwickelt. Nach 12tägiger Aufbewahrung waren die betreffenden Röhrchen entweder nur etwas dickflüssig geworden, oder aber es hatte sich ein kleines Coagulum im untersten Theil des Gläschens gebildet. Wurde derartige, schon theilweise geronnene Milch nun in den Brütschrank gebracht, so erfolgte gewöhnlich innerhalb von 24 Stunden völlige Coagulation. Wurden die Röhrchen von vornherein bei Brütwärme aufgestellt, so war die Gerinnung nach 4 bis 5 Tagen



beendet. Auch die Consistenz des Coagulums war eine andere als bei den Bakterien I, es war locker und enthielt in seinen Spalten und Lücken zuweilen Gasläschen, die dort stets gefehlt hatten. Die Bakterien III, die Kokken, brachten bei Brüttemperatur die Milch fast so schnell zur Gerinnung, wie die Bakterien I, blieben dagegen bei Zimmertemperatur selbst hinter den Bakterien II zurück: die Milchröhrchen zeigten nach 12tägigem Stehen makroskopisch keine Veränderung. Das Coagulum stellte eine feste, compacte Masse dar, die meistens mit dem Boden und den Wandungen des Röhrchens innig verklebt war, während sich darüber ein reichliches klares Serum angesammelt hatte. Bei längerem Stehen nahm das Coagulum ein wachsartiges Aussehen an, was der allmählichen Peptonisirung und Auflösung des Caseïns zuzuschreiben war.

War durch diese vorläufigen Versuche zunächst dargethan, dass die sämmtlichen, von uns isolirten Bakterienculturen als mehr oder weniger starke Säurebildner anzusehen waren, so schlossen sich nun genauere Beobachtungen zur Prüfung ihrer weiteren morphologischen und physiologischen Eigenschaften an.

III. Morphologische und culturelle Eigenschaften der gewonnenen Organismen.

a) Der Organismus I.

In die erste Gruppe gehören, wie schon erwähnt, jene 16 Stämme, die sowohl in den bei Zimmer- wie bei Brüttemperatur spontan geronnenen Milchproben am zahlreichsten vertreten waren und sich auch als die stärksten Säurebilner unter allen erwiesen haben. Das mikroskopische Bild der sämmtlichen Culturen und ebenso ihr Wachsthum auf den verschiedensten Nährböden zeigte eine so vollkommene Uebereinstimmung, dass ihre Identität ausser Frage steht. Es handelt sich um ein mittelgrosses, an beiden Enden etwas zugespitztes, unbewegliches Stäbchen ohne Sporen, das meist paarweise angeordnet ist, nicht selten aber, besonders in zuckerhaltigen Flüssigkeiten, längere Ketten von 10 bis 15 und mehr einzelnen Gliedern bildet. Das Verhalten des Organismus den üblichen basischen Anilinfarbstoffen gegenüber bietet nichts Besonderes. Dagegen sei hervorgehoben, dass die Färbung auch nach der Gram'schen Methode leicht gelingt.

Verhalten der Culturen.

1. Bouillon. In gewöhnlicher Bouillon ist das Wachsthum ein sehr spärliches. Bei Zimmertemperatur tritt eine Trübung nach 3 bis 4 Tagen



ein. Auch bei Brütwärme lässt sich nach 24 Stunden nur eine leichte Trübung der Flüssigkeit wahrnehmen. In Traubenzucker- oder Milchzuckerbouillon ist die Entwickelung eine bedeutend bessere, und im Laufe mehrerer Tage entsteht ein mässiger Bodensatz. Eine Häutchen- oder Deckenbildung tritt niemals ein. Die Anfangs alkalische Zuckerbouillon wird im Laufe des Wachsthums stark sauer, während die Reaction der gewöhnlichen Fleischbrühe unverändert bleibt.

2. Traubenzuckerbouillonculturen im Gährungskölbchen. Nach 24 Stunden zeigt die Flüssigkeit bei Brüttemperatur nur eine leichte Trübung im unteren Theile der Kugel. Bei längerem Stehen breitet sich das Wachsthum immer weiter aus, bis schliesslich die ganze Flüssigkeit mehr oder weniger getrübt ist. Es findet keine Gasbildung statt.

3. Milchzuckerbouillonculturen im Gährungskölbchen. Von dem Verhalten des Organismus diesem Nährboden gegenüber kann das Gleiche gesagt werden, wie vorher. Gasentwickelung findet auch hier nicht statt. Es scheint daher, dass die durch diesen Organismus bewirkte Zersetzung des Zuckers ziemlich glatt nach der einfachen bekannten Formel verläuft. Natürlich muss es dahingestellt bleiben, ob kleine Mengen anderer Stoffwechselprodukte, z. B. Alkohol, flüchtige Fettsäuren u. s. w. dabei entstehen, wie dies bei vielen anderen Milchsäurebildnern der Fall ist.

4. Gelatineplattenculturen. Auf gewöhnlicher, sowie auf milchzuckerhaltiger Gelatine erscheinen am dritten Tage sehr feine weisse Pünktchen, die auch bei starker Verdünnung, welche jede Platzconcurrenz ausschliesst, nur wenig an Grösse und Umfang zunehmen. Bei schwacher Vergrösserung stellen sich die Oberflächencolonieen als rundliche, ziemlich glattrandige, hellgraue, nach der Mitte zu dunkler werdende, feinkörnige Scheiben dar. Die kleineren Tiefencolonieen haben, mit blossem Auge betrachtet, das Aussehen hellgrauer Pünktchen; bei schwacher Vergrösserung erscheinen sie als unregelmässig runde, graue, grobkörnige Scheiben. Der Nährboden wird nicht verflüssigt.

5. Gelatinestichculturen. Entlang des Stichcanals entsteht nach 2 Tagen ein weisser, dünner Streifen, der ziemlich gleichmässig bis zum Boden fortschreitet. Die Entwickelung ist eine sehr langsame. Ein deutliches Oberflächenwachsthum lässt sich nicht bemerken. In zuckerhaltiger Gelatine ist das Gedeihen besser als in der gewöhnlichen. Eine Gasbildung findet aber auch in der ersteren nicht statt.

6. Gelatinestrichculturen. In Strichculturen auf gewöhnlicher, sowie milchzuckerhaltiger Gelatine entsteht 2 bis 3 Tage nach der Impfung ein gleichmässiger, sehr feiner, weisser, körniger Belag, dessen Wachsthum sehr langsam fortschreitet. Der Rand scheint bei Lupenbetrachtung etwas



ausgebuchtet. Eine Verflüssigung tritt selbst nach 2monatlicher Cultur nicht ein.

7. Traubenzuckeragarplattenculturen. Auf den Platten werden bei Brütwärme schon am ersten Tage nach der Aussaat feine, weisse Pünktchen sichtbar, die sich aber nur sehr langsam weiter vergrössern. Bei schwacher Vergrösserung sind die Oberflächencolonieen als runde, hellgraue, feinkörnige Scheiben mit glattem Rande zu erkennen. Die kleinen, hellgrauen Tiefencolonieen sind ebenfalls feinkörnig und glattrandig.

8. Traubenzuckeragarstichculturen. Entlang des Stichcanals entwickelt sich nach 24 Stunden bei Brütwärme ein feiner Streifen, der ziemlich gleichmässig bis zum Boden reicht. An der Einstichstelle entsteht keine deutliche Auflagerung. Es findet keine Gasbildung statt.

9. Traubenzuckeragarstrichculturen. Auf schräg erstarrtem Traubenzuckeragar entsteht nach 2 Tagen bei Brüttemperatur ein trockener, gleichmässig dünner, weisser Rasen, der sich nicht wesentlich weiter entwickelt.

10. Milchzuckergelatineplattenculturen unter Zusatz von Calciumcarbonat. Auf den Platten erscheinen nach 2 Tagen feine, weisse Körnchen, welche jedoch, wie schon erwähnt, nur ein verhältnissmässig geringes, weiteres Wachsthum zeigen und auch nach langer Zeit niemals einen grösseren Umfang erreichen. Die Colonieen auf den Verdünnungsplatten zeigen breite, durchsichtige, ungemein charakteristische Säurediffusionsfelder, während auf den dichten Originalplatten die Diffusionsfelder kaum hervortreten, wie dies auch Günther und Thierfelder[1] schon bemerkt haben. Uebrigens finden sich auch auf den Verdünnungsplatten zuweilen Colonieen, denen die durchsichtigen Felder fehlen, weil sie auf der Oberfläche des Kreidebodens ihren Sitz haben, wo mitunter das Calciumcarbonat mangelt. Bei schwacher Vergrösserung erscheinen die Colonieen als runde, feinkörnige, glattrandige Scheiben, die von durchsichtigen Säurekreisen umgeben sind.

11. Kartoffelculturen (nach Globig). Das Wachsthum auf diesem Nährboden ist ein äusserst geringfügiges. Nach 24 Stunden ist längs des Impfstriches noch keine sichtbare Veränderung eingetreten. Nach 3 Tagen entsteht häufig, wenn auch nicht immer, ein kaum wahrnehmbarer Belag, der jedoch auch nach langer Zeit keine wesentlichen weiteren Fortschritte zeigt.

12. Culturen in eiweissfreier Nährlösung. In der von C. Fränkel abgeänderten Uschinsky'schen Asparaginlösung gedeiht der Bacillus

[1] A. a. O.



nicht. Selbst bei 10 tägigem Aufenthalt im Brütschrank zeigt die Flüssigkeit keine Veränderung.

13. Milchculturen. Im Brütschrank wird die Milch meistens innerhalb von 24 Stunden zur Coagulation gebracht. Bei Zimmertemperatur gerinnt sie nach 2 bis 3 Tagen. Das dabei entstehende Coagulum ist homogen und fest, so dass das Serum nur selten beim Neigen der Röhrchen zum Vorschein kommt. Dieser Zustand verändert sich auch bei längerer Aufbewahrung nicht. Auch hier wird keine Spur von Gasbildung beobachtet. Die Reaction der geronnenen Milch ist selbstverständlich stark sauer.

14. Milchzuckergelatineplattenculturen bei Abschluss der Luft. Auf den Platten, die in einer Wasserstoffatmosphäre, d. h. im sogenannten Botkin'schen Apparate gehalten worden sind, erscheinen am dritten oder vierten Tage nach der Aussaat feine, weisse Pünktchen, die auch hier selbst nach längerer Zeit niemals eine beträchtlichere Grösse erreichen. Sowohl der makroskopische als auch der mikroskopische Befund stimmt ganz mit demjenigen bei Luftzutritt überein.

15. Tödtungstemperatur. Um die Widerstandsfähigkeit dieses Organismus gegen höhere Temperaturen festzustellen, wurden 4- bis 6 tägige Zuckerbouillonculturen verwendet, und jedesmal 3 Oesen in frische, vorher im Wasserbade auf die gewünschte Temperatur erhitzte Traubenzuckerbouillon übertragen. Nach Ablauf der Einwirkungszeit, meist 5 Minuten, wurden die Röhrchen unter dem Strahl der Wasserleitung rasch abgekühlt und dann in den Brütschrank gebracht. Es ergab sich so, dass eine Temperatur von 65° C. nach 5 Minuten alle Culturen mit Sicherheit abtödtete, während bei 60° C. der Erfolg kein ganz gleichmässiger war, bald Absterben erfolgte, bald jedoch noch nachträgliches Wachsthum eintrat.

b) Der Organismus II.

In die zweite Gruppe gehören 6 Bakterienstämme, welche besonders in den bei höherer Temperatur spontan geronnenen Milchproben in reichen Mengen vorhanden waren. Die betreffenden Culturen zeigten bezüglich ihres mikroskopischen Aussehens, wie auch ihres Verhaltens auf den verschiedenen Nährböden völlige Uebereinstimmung. Es handelt sich um ein plumpes Stäbchen ohne Eigenbewegung, das meist einzeln, selten nur zu zweien auftritt und niemals längere Ketten bildet. Sporen wurden nicht beobachtet. Der Bacillus färbt sich ohne Schwierigkeit mit den gebräuchlichen Farbstoffen und erweist sich auch der Behandlung nach der Gram'schen Methode zugänglich.



Verhalten der Culturen.

1. Bouillon. Sowohl in gewöhnlicher, als auch in zuckerhaltiger Fleischbrühe ist das Wachsthum ein sehr kräftiges. Innerhalb der ersten 24 Stunden schon tritt eine starke Trübung ein, und gleichzeitig sammelt sich ein flockiger, weisser Niederschlag an. Auf der Oberfläche der Flüssigkeit entwickelt sich keine eigentliche Deckhaut, wohl aber entsteht an der Berührungsstelle mit der Wandung der Röhrchen häufig ein weisser, ringförmiger Ansatz. Die chemische Reaction der gewöhnlichen Bouillon wird durch das Bakterienwachsthum nicht verändert, während die der zuckerhaltigen stark sauer wird. Die zuckerhaltige Bouillon schäumt beim Schütteln, ein Beweis dafür, dass reichliche Gasbildung eingetreten ist. Bei Bruttemperatur ist das Wachsthum viel schneller als bei Zimmerwärme.

2. Traubenzuckerbouillon im Gährungskölbchen. Im Brütschrank findet innerhalb 24 Stunden eine vollkommene Trübung der Flüssigkeit statt. Am Boden der Kugel hat sich ein weisses Sediment gesammelt. Etwa der vierte Theil des geschlossenen Schenkels ist mit Gas gefüllt, das sich bei näherer Untersuchung hauptsächlich als CO_2 zu erkennen giebt. Die Culturflüssigkeit wird durch das Bakterienwachsthum stark gesäuert.

3. Milchzuckerbouillon im Gährungskölbchen. Hier gedeiht der Organismus ebenso üppig wie im vorigen Nährboden. Die Umsetzung des Zuckers geht bei dieser Gährung nicht so glatt vor sich, wie bei dem Bacillus I. Hier ist die Gährung auch immer von der Entwickelung von Kohlensäure begleitet.

4. Gelatineplattenculturen. Schon nach 24 Stunden erscheinen feine, weisse Pünktchen, die ziemlich schnell an Grösse zunehmen. Nach 5 tägiger Cultur erreichen die Oberflächencolonieen auf den Verdünnungsplatten einen Durchmesser von etwa 3 bis 4 mm, während die Tiefencolonieen immer noch klein bleiben. Makroskopisch stellen sich die Oberflächencolonieen zunächst als rundliche, weisse, im Centrum etwas erhöhte Scheiben dar. Allmählich gewinnen die Colonieen dann ein sehr charakteristisches Aussehen, indem sich um den dichten Kern eine Anzahl concentrisch geschichteter Zonen lagert, zugleich aber von der Mitte nach den Randtheilen strahlige Ausläufer ziehen, die wie die Speichen eines Rades erscheinen. Der Saum ist regelmässig gelappt. Bei schwacher Vergrösserung stellen sich die Oberflächencolonieen als runde, grob gelappte Scheiben dar, deren einzelne Theile wiederum in feinere Abschnitte zerfallen. In den centralen Bezirken zeigen sich oft Faltungen. Die Tiefencolonieen bieten mikroskopisch auch das Bild kleiner Scheiben dar, deren dunklerer Kern von einer etwas durchsichtigen und gelappten Randzone umrahmt ist. Hier

zeigen sich auch concentrische Schichtungen, die sich nach der Mitte hin durch die dunkler werdende Färbung von einander abgrenzen.

5. Gelatinestichculturen. In gewöhnlicher Gelatine entwickelt sich nach 24 Stunden ein weisser Faden längs des Impfstiches. An der Einstichstelle bildet sich eine weisse Auflagerung, die später concentrische Ringe und auch oft radiäre Strahlen erkennen lässt. Der Rand ist gebuchtet. In Michzuckergelatine entstehen nach und nach zahlreiche Gasbläschen, die dem ganzen Nährboden ein zerklüftetes Aussehen verleihen.

6. Gelatinestrichculturen. Am zweiten Tage erscheint längs des Impfstriches ein weisser, dünner Streifen, der sich ziemlich schnell weiter entwickelt. Der Rand des Rasens buchtet sich mit der Zeit aus. Eine Verflüssigung der Gelatine tritt nicht ein.

7. Agarplattenculturen. Innerhalb von 24 Stunden entwickeln sich bei Brüttemperatur ziemlich grosse Colonieen, die auf der Oberfläche der Verdünnungsplatten einen Durchmesser von 2 ^{mm} annehmen. Sie vergrössern sich aber schnell und stellen nach 3 Tagen Auflagerungen von 4 bis 5 ^{mm} Durchmesser dar. Nach und nach treten dann sowohl die schon erwähnten ringförmigen Schichten, wie auch die schöne, strahlige Structur hervor, so dass die Colonieen ein sehr charakteristisches Aussehen gewinnen. Bei schwacher Vergrösserung erscheinen diese Colonieen meist als hellbraune Gebilde von streifiger Anordnung, die besonders in den Randtheilen bemerkbar wird. In der Mitte zeigen sich oft faltige oder runzlige Figuren. Der Saum ist nicht gelappt. Noch schneller als in gewöhnlichem erfolgt die Entwickelung in Traubenzuckeragar.

8. Traubenzuckeragarstichculturen. An der Einstichstelle zeigt sich schon nach 24 Stunden eine weisse, gelappte Auflagerung, die sich allmählich über die Agaroberfläche hin ausbreitet und dabei deutlich einzelne, von einander geschiedene Bezirke erkennen lässt. Längs des Stichcanals bildet sich ein dicker, weisser, bis zum Boden reichender Streifen. Stets hat ausgiebige Gasentwickelung statt, die zuweilen so energisch wird, dass die Agarsäule in Stücke gerissen und emporgetrieben wird.

9. Agarstrichculturen. Längs des Impfstriches entsteht innerhalb von 24 Stunden ein weisser, lackartig glänzender Rasen, dessen Rand Ausbuchtungen zeigt. Im Condensationswasser sammelt sich ein reichlicher, weisser Bodensatz an.

10. Milchzuckergelatineplattenculturen unter Zusatz von Calciumcarbonat. Schon am zweiten Tage nach der Aussaat erscheinen auf der Oberfläche weisse, regelmässig gebildete Colonieen, die auch weiterhin ein schnelles Wachsthum zeigen, während die in der Tiefe des Nährbodens liegenden eine gelbliche Färbung besitzen und sich sehr viel lang-



samer entwickeln. Die Säurefelder sind schmal und auf einen engen Umfassungsring beschränkt. Mit der Zeit tritt in Folge der Gasbildung eine Zerklüftung sowohl der Colonieen selber, als auch der diese umgebenden Gelatine ein.

11. Traubenzuckeragarplattenculturen unter Zusatz von Calciumcarbonat. Das makroskopische und mikroskopische Aussehen ist ganz das gleiche wie auf dem nämlichen Substrat ohne Calciumcarbonat. Die Säurediffusionsfelder sind noch undeutlicher als auf Gelatine und fehlen gewöhnlich bei den Oberflächencolonieen auf den Verdünnungsplatten vollständig. Die Gasbildung macht sich natürlich auch hier bemerkbar.

12. Kartoffelculturen (nach Globig). Das Wachsthum ist ein sehr üppiges; bei Brüttemperatur entsteht nach 24 Stunden schon ein dicker, grobkörniger, hellgrauer Belag, dessen Rand sich nach und nach ausbuchtet.

13. Culturen in eiweissfreier Nährflüssigkeit. In der von C. Fränkel modificirten Uschinsky'schen Asparaginlösung tritt bei Brüttemperatur nach 24 Stunden eine Trübung ein, die weiterhin bestehen bleibt. Ausserdem entwickelt sich an der Oberfläche in der Regel eine feine Deckhaut, die aber leicht zu Boden sinkt.

14. Milchculturen. Bei Brüttemperatur erfolgt meist nach 3 bis 4 Tagen Gerinnung, während die Milch bei Zimmerwärme häufig auch nach 12 Tagen erst dickflüssig geworden ist oder ein kleines Coagulum hat entstehen lassen. Die Reaction ist aber auch im letzteren Falle stark sauer. Bei der mikroskopischen Untersuchung derartiger Milch finden sich ausserordentliche Mengen der verimpften Mikroorganismen. Wird die bis dahin bei Zimmertemperatur gehaltene Milch dann weiter dem Brütschrank überliefert, so vollzieht sich, wie bereits früher erwähnt, im Laufe der nächsten 24 Stunden eine vollständige Coagulation, die zur Bildung eines lockeren, von Rissen und Spalten durchsetzten Gerinnsels und zur Abscheidung nicht unbeträchtlicher Mengen von Serum führt. Die Consistenz des entstandenen Coagulums ändert sich auch bei längerem Stehen nicht.

15. Plattenculturen bei Abschluss des Sauerstoffes. In einer Wasserstoffatmosphäre entwickeln sich auf Agar und Gelatine die Colonieen ebenso schnell wie bei Zutritt des Sauerstoffes, und auch das makroskopische oder mikroskopische Bild zeigt keine irgendwie bemerkenswerthen Unterschiede. Nur die Grösse scheint in der Regel etwas hinter der unter normalen Verhältnissen meist erreichten zurück zu bleiben.

16. Tödtungstemperatur. Nach 5 Minuten langer Erwärmung auf 65° C. sind die aus 2 Tage alten Zuckerbouillonculturen stammenden Keime stets vernichtet.



c) Der Organismus III.

Hierher gehören 6 Stämme, die aus den bei Brütwärme geronnenen Proben herrühren und einen typischen, meist paarweise gelagerten und stets von einer mehr oder minder umfangreichen Kapsel umgebenen Micrococcus enthalten. Die Kapsel entsteht, wie ausdrücklich bemerkt sein mag, auch auf allen künstlichen Nährböden. Der Micrococcus ist unbeweglich und besitzt keine Dauerform. Die Färbung gelingt mit allen gebräuchlichen Mitteln, auch bei Anwendung der Gram'schen Methode.

Verhalten der Culturen.

1. Bouillon. Bei Brütwärme ist in gewöhnlicher wie in Zuckerbouillon schon nach 24 Stunden ein ausserordentlich üppiges Wachsthum eingetreten, während die Entwickelung bei Zimmerwärme nur sehr langsame Fortschritte macht. Im ersteren Falle entsteht rasch eine starke Trübung der Flüssigkeit; nach einiger Zeit setzt sich dann am Boden ein dickes, weisses Sediment ab, das sich auch bei kräftigem Schütteln nicht wieder gleichmässig vertheilen lässt, sondern nur in einzelne zähe Fäden auflöst. An der Oberfläche bildet sich keine Deckhaut. Bleibt bei der gewöhnlichen Fleischbrühe die Reaction unverändert, so wird die Zuckerbouillon stark sauer.

2. Traubenzuckerbouillonculturen im Gährungskölbchen. Es erfolgt bei Brütwärme ein rasches und üppiges Wachsthum ohne Gasentwickelung. Die Flüssigkeit trübt sich; im abhängigsten Theile der Kugel sammeln sich grössere Mengen eines dicken, fadenziehenden Bodensatzes an. Die Fleischbrühe wird deutlich sauer.

3. Milchzuckerbouillonculturen im Gährungskölbchen. Der Organismus verhält sich in dieser Nährflüssigkeit in gleicher Weise wie in der vorhergenannten. Die Zersetzung des Zuckers geht ebenso glatt von Statten wie bei dem Organismus I.

4. Gelatineplattenculturen. Auf gewöhnlicher sowohl, als auch auf zuckerhaltiger Gelatine erscheinen nach 48 Stunden feine Pünktchen, die nur langsam an Grösse zunehmen. Am vierten oder fünften Tage tritt eine Verflüssigung des Substrates ein. Bei schwacher Vergrösserung erscheinen die Colonieen als runde, körnige Gebilde mit ausgebuchtetem Rande.

5. Gelatinestichculturen. Längs des Stichcanals hat zunächst eine langsame, aber gleichmässige Entwickelung stattgefunden; etwa am dritten Tage beginnt dann von der Oberfläche des Nährbodens aus eine Erweichung des letzteren, die allmählich in die Tiefe vordringt und einen



kürbisflaschenähnlichen Verflüssigungsbezirk entstehen lässt, auf dessen Boden sich die gebildeten Bakterien in dichten Haufen ansammeln, während die Flüssigkeit selbst klar bleibt.

6. Gelatinestrichculturen. Auch in der Gelatinestrichcultur sind die Verhältnisse natürlich ganz ähnlich. Der dünne, weisse Rasen verflüssigt den Nährboden in seiner Umgebung, und allmählich macht die Auflösung desselben dann weitere Fortschritte.

7. Agarplattenculturen. Bei Brütwärme haben die an der Oberfläche entstandenen Colonieen häufig schon nach 24 Stunden einen Durchmesser von 7 mm und darüber erreicht. Dem blossen Auge erscheinen sie als weisse, gleichmässig erhabene, rundliche, scharf umrandete Gebilde von zähschleimiger Consistenz. Unter dem Mikroskop zeigen sie eine leicht gelbliche Färbung und körnige Structur.

8. Traubenzuckeragarstichculturen. Bei Brüttemperatur entsteht innerhalb von 24 Stunden längs des Stichcanals ein weisser Streifen, der bis zum Boden reicht. Auf der Oberfläche breitet sich die Cultur als ein weisser, feuchter Belag von schleimiger Consistenz aus. Gasbildung findet nicht statt.

9. Agarstrichculturen. Bei Brüttemperatur kommt innerhalb von 24 Stunden ein weisser, feuchter, dicker, schleimiger Rasen mit ausgebuchteten Rändern zur Entwickelung.

10. Traubenzuckeragarplattenculturen unter Zusatz von Calciumcarbonat. Die Eigenschaften der Colonieen sind die gleichen wie auf dem vorigen Nährboden. Die Säurefelder sind schmal und werden aus früher schon erörterten Gründen auf den Originalplatten häufig ganz vermisst.

11. Kartoffelculturen (nach Globig). Bei Brütwärme ist schon nach 24 Stunden ein dicker, weisser, feucht glänzender Rasen von schleimiger Beschaffenheit entstanden.

12. Culturen in eiweissfreier Nährflüssigkeit. In der schon erwähnten Asparaginlösung scheinen die Organismen nicht zu gedeihen.

13. Milchculturen. Bei gewöhnlicher Temperatur sind in der Milch auch nach Ablauf von 10 bis 12 Tagen mit blossem Auge erkennbare Veränderungen noch nicht eingetreten, und erst wenn derartige Proben in den Brütschrank gestellt werden, fallen sie schon nach 24 Stunden vollständiger Gerinnung anheim. Wird die Milch von vornherein bei Brütwärme aufbewahrt, so hat das gleiche Ereigniss nach 2 bis 3 Tagen statt. Es entsteht dann einmal ein ausserordentlich festes Gerinnsel, daneben aber bilden sich auch so beträchtliche Mengen von Serum, wie wir sie bei dem Organismus II oder gar bei I niemals anzutreffen pflegen, und es mag im Zusammenhange mit dieser Erscheinung darauf

verwiesen sein, dass Leichmann[1] auch bei der natürlichen Milchgerinnung unter höheren Temperaturen das Auftreten eines sehr festen Coagulums bei gleichzeitiger reichlicher Serumausscheidung beobachtet hat.

Bei längerem Stehen unterliegt das Caseïngerinnsel dann der allmählichen Auflösung und Peptonisirung; es wird schmierig, und wenn man derartige Milch durch Kochen mit essigsaurem Blei und etwas Bleioxydhydrat von den noch vorhandenen coagulirbaren Eiweissstoffen befreit, so giebt sie eine deutliche Biuretreaction.

14. Plattenculturen bei Abschluss des Sauerstoffes. In einer Wasserstoffatmosphäre erfolgt das Wachsthum ohne Schwierigkeiten. Die entstandenen Culturen zeigen keine irgendwie bemerkenswerthen Abweichungen von den aëroben Vergleichsculturen.

15. Tödtungstemperatur. Erst bei 70° C. erfolgt im Laufe von 5 Minuten sichere Vernichtung der Keime.

IV. Natur der von den 3 Bakterienarten gebildeten Milchsäure.

Um die Natur der Milchsäure, welche die von uns isolirten Bakterien aus Milchzucker abzuspalten vermögen, genau festzustellen, haben wir die einzelnen Culturen in sterilisirte Milch geimpft, nach erfolgter Gerinnung dann die Milchsäure in der schon beschriebenen Weise isolirt und die letztere auf ihr chemisches Verhalten untersucht. Für diesen Zweck ist es erforderlich, mit grossen Mengen einer vorher sicher sterilisirten Milch zu operiren, und die Erfüllung dieser Vorbedingung macht nicht ganz geringe Schwierigkeiten. Wie uns noch in letzter Zeit wieder die bekannten Beobachtungen von Flügge[2] gelehrt, kommen in der Milch häufig Keime von ungemein hoher Widerstandsfähigkeit vor, die nur durch eine entweder sehr lange ausgedehnte oder über die sonst benutzte Temperatur gesteigerte Sterilisirung abgetödtet werden können. In beiden Fällen unterliegt die Milch aber mehr oder minder umfangreichen Veränderungen, die sich schon äusserlich durch die Färbung zu erkennen geben und von denen a priori nicht gewiss ist, ob sie nicht die Gerinnbarkeit der Milch beeinträchtigen, bezüglich auf die Art der gebildeten Säure von Einfluss sein können. Um diesem Uebelstande zu begegnen, haben wir uns deshalb, wie Günther und Thierfelder, einer fractionirten Sterilisation bedient. Grosse, mit Wattestopfen versehene Glaskolben, die

[1] *Landwirthschaftliche Versuchsstationen.* Bd. XLIII. S. 375.

[2] *Diese Zeitschrift.* Bd. XVII. S. 272.



etwa 1 Liter Milch enthielten, wurden zunächst 1 Stunde lang im Koch-schen Dampftopf auf 100° C. erhitzt, dann bis zum folgenden Tage im Brütschrank bei 37° C. aufbewahrt, darauf von Neuem $^1/_2$ Stunde lang erhitzt, in den Brütschrank zurückgebracht und dieses Verfahren an 3 auf einander folgenden Tagen wiederholt. Zum Schluss kam die Milch, die übrigens meist doch eine leichte Bräunung zeigte, noch für 3 weitere Tage in den Brütschrank und wurde erst, wenn sie auch diese Probe bestanden und sich bei der bakteriologischen Untersuchung als keimfrei erwiesen hatte, in Benutzung genommen. Nach geschehener Impfung mit der betreffenden Reincultur hielten wir die Kolben wieder im Brütschrank, bis vollständige Gerinnung eingetreten war.

Den Gang der Versuche schildern die nachstehenden Bemerkungen.

1. Impfungen mit Reinculturen des Organismus I.

Am 17. I. 1898 wurde je 1 Liter sterilisirter Milch mit den folgenden Reinculturen inficirt.

Nr. der sterilisirten Milch.	Bezeichnungen der Reinculturen.
1	*a*
2	*a'*
3	*b*
4	*c*
5	*d*
6	*d'*
7	*e*
8	*e'*

Am 19. I. waren die sämmtlichen Milchproben geronnen.

Am 7. II. wurde ebenfalls 1 Liter sterilisirter Milch mit den folgenden Reinculturen geimpft.

Nr. der sterilisirten Milch.	Bezeichnungen der Reinculturen.
9	*f*
10	*g*
11	*h*
12	*h'*
13	*i*
14	*j*
15	*j'*
16	*k*

Am 9. II. waren die sämmtlichen Proben in Gerinnung übergegangen.

2. Impfungen mit Reinculturen des Organismus II.

Am 3. III. wurde je 1 Liter sterilisirter Milch mit den folgenden Reinculturen geimpft.



Nr. der sterilisirten Milch.	Bezeichnungen der Reinculturen.
17	*l*
18	*m*
19	*n*
20	*o*
21	*p*
22	*q*

Am 8. III. waren die inficirten Milchproben geronnen.

3. Impfungen mit Reinculturen des Organismus III.

Am 20. III. wurde ebenfalls je 1 Liter sterilisirter Milch mit den folgenden Reinculturen geimpft.

Nr. der sterilisirten Milch.	Bezeichnungen der Reinculturen.
23	*r*
24	*s*
25	*t*

Am 23. III. waren die Milchproben geronnen.

Am 3. IV. wurde je 1 Liter sterilisirter Milch mit den folgenden Reinculturen geimpft.

Nr. der sterilisirten Milch.	Bezeichnungen der Reinculturen.
26	*u*
27	*v*
28	*w*

Am 5. IV. zeigten sich die sämmtlichen Milchproben geronnen.

Die Ergebnisse der chemischen Analyse der auf die beschriebene Weise gewonnenen Milchsäure sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Nr. der Milchproben	Impfmaterial	Gehalt des Zinklactats an Krystallwasser Proc.	Gehalt des Zinklactats an Zinkoxyd Proc.	Specifisches Drehungsvermögen des Zinklactats Grad
1	Reinculturen von Organismus I	12·75	33·16	— 7·29
2		13·04	33·94	— 7·37
3		13·10	32·65	— 7·92
4		12·88	33·90	— 7·68
5		12·87	33·66	— 7·50
6		13·25	33·43	— 7·92
7		13·50	33·24	— 7·47
8		13·71	33·01	— 7·68
9		12·83	33·46	— 7·81
10		13·16	32·53	— 7·54

(Fortsetzung.)

Nr. der Milchproben	Impfmaterial	Gehalt des Zinklactats an Krystallwasser Proc.	Gehalt des Zinklactats an Zinkoxyd Proc.	Specifisches Drehungsvermögen des Zinklactats Grad
11	Reinculturen von Organismus I	13·44	33·12	— 7·98
12		14·00	33·23	— 7·[illegible]4
13		13·50	33·24	— 7·74
14		13·00	33·72	— 7·92
15		13·60	32·41	— 7·60
16		14·00	32·56	— 7·81
17	Reinculturen von Organismus II	12·91	32·74	+ 7·29
18		13·21	33·18	+ 7·18
19		12·89	33·53	+ 7·65
20		12·83	33·65	+ 7·81
21		13·66	33·90	+ 7·44
22		13·00	33·72	+ 7·50
23	Reinculturen von Organism. III	13·60	32·41	— 7·66
24		13·17	34·09	— 7·48
25		12·16	32·69	— 7·92
26		13·84	32·09	— 7·81
27		12·91	32·13	— 7·64
28		13·16	33·00	— 7·81

Aus der vorstehenden Tabelle erhellt, dass Organismus I und Organismus III aus Milchzucker stets reine Rechtsmilchsäure, Organismus II dagegen deren optischen Antipoden, d. i. Linksmilchsäure abspaltet. Hervorgehoben sei, dass die vollkommene Uebereinstimmung des gebildeten Productes bei den sämmtlichen Stämmen einer und derselben Gruppe als ein weiterer und wichtiger Beweis für ihre Identität angesehen werden kann.

V. Wirkung der Reinculturen auf verschiedene Nährlösungen.

1. Auf Milchserum. Da die Milch, wie wiederholentlich besprochen, bei der Sterilisirung durch Hitze gewisse Veränderungen erfährt, die auch bei dem von uns angewendeten Verfahren nicht ganz ausbleiben, und die vielleicht die Lebensäusserungen der in die Milch übertragenen Bakterien in eine besondere, unter natürlichen Verhältnissen nicht gegebene Bahn lenken, so haben wir den Versuch gemacht, die Wirkung unserer Mikrobien auch in einer nicht durch höhere Temperaturen, sondern auf mechanischem Wege, durch Filtration, von ihren Keimen befreiten Milch



festzustellen. Allerdings gelingt es nicht, die ganze Milch so zu sterilisiren, da sich die Filter sofort verstopfen und undurchlässig werden. Wir sind vielmehr nur so zum Ziele gelangt, dass wir centrifugisch entfettete Milch zunächst durch Zusatz von Lab zur Gerinnung brachten und dann das abgeschiedene und gährfähige Material, nämlich das den Milchzucker noch in unveränderter Gestalt enthaltende Serum durch Berkefeldfilter schickten. Hatte sich eine genügende Menge der klaren, amphoter reagirenden Flüssigkeit angesammelt, so wurde sie mit den Reinculturen der einzelnen Bakterien, eine Probe aus bestimmten Gründen auch mit wenigen Tropfen einer bei Brütwärme spontan geronnenen Milch inficirt, in den Brütschrank gestellt und nach 4 Tagen auf die Natur der hier gebildeten Säure geprüft. Das vorher völlig durchsichtige Serum war in dieser Zeit stets trübe und stark sauer geworden.

Die folgende Tabelle zeigt die so erzielten Resultate.

Impfmaterial	Gehalt des Zinklactats an Krystallwasser Proc.	Gehalt des Zinklactats an Zinkoxyd Proc.	Specifisches Drehungsvermögen des Zinklactats Grad
Mikroorganismus I	13·60	33·80	— 7·48
„ II	12·69	33·06	+ 7·47
„ III	12·77	32·93	— 7·29
Spontan geronnene Milch . .	18·12	33·66	± 0

Die Natur der aus dem Milchzucker abgespalteten Säure ist also ganz die gleiche, mag die Milch nun durch Erhitzung oder auf dem von uns eingeschlagenen Wege durch Filtration sterilisirt worden sein: die Mikroorganismen I und III erzeugen reine Rechts-, Mikroorganismus II reine Linksmilchsäure. Dagegen war in dem Serum, das mit bei Brütwärme spontan geronnener Milch inficirt worden war, die inactive Form entstanden, im vollen Einklang mit der Thatsache, dass gerade in derartiger Milch neben den Rechtsmilchsäure producirenden auch reiche Mengen von Linksmilchsäure liefernden Mikroorganismen vorzukommen pflegen und eben deshalb bei der Gerinnung die inactive Modification auftritt. Wirklich zeigten sich bei der mikroskopischen und culturellen Untersuchung der betreffenden Serumprobe auch neben einander die Mitglieder der beiden Gruppen von Bakterien, denen die entsprechende Fähigkeit innewohnt.

2. **Auf Lösungen mit wechselnden Stickstoffsubstanzen.** Da, wie schon erwähnt, verschiedene französische Forscher nachgewiesen haben, dass die Natur der gebildeten Milchsäure auch von der Art und Menge der Stickstoffnahrung abhängig sein kann, so haben wir auch



unsere Bakterien, und zwar die Mikroorganismen I und II hierauf untersucht. Zu diesem Zwecke haben wir zuerst eine Nährlösung hergestellt, welche aus 20·0 Milchzucker, 2·0 Dicaliumphosphat, 0·2 Magnesiumsulfat und 1000·0 grm Wasser bestand. Zu dieser Stammlösung wurden dann die folgenden Substanzen als Stickstofflieferer hinzugesetzt.

Nr. 1	Ammoniumsulfat	2·0 grm
„ 2	Asparagin	2·0 grm
„ 3	Pepton	2·0 grm
„ 4	„	10·0 grm

Je $^1/_2$ Liter dieser Culturflüssigkeit wurde in Glaskolben gefüllt, die dann behufs Sterilisirung an 3 auf einander folgenden Tagen je $^1/_2$ Stunde lang im Dampftopf erhitzt wurden. Die Lösungen wurden dann mit den Mikroorganismen I bezw. II beimpft und dem Brütschrank anvertraut. In dem mit 1 und 2 bezeichneten Proben, die als Stickstoffquelle das Ammoniaksalz oder das Asparagin enthielten, gelangte Mikroorganismus I überhaupt nicht zur Entwickelung, und der Milchzucker also auch nicht zur Vergährung. Mikroorganismus II dagegen zeigte reichliches Wachsthum, und Hand in Hand damit ging eine ausgiebige Bildung von Milchsäure. Das Gleiche war ferner sowohl bei Mikroorganismus I, wie bei II. in den übrigen, vorher mit 3 und 4 bezeichneten Proben der Fall, die mit wechselnden Mengen von Pepton versehen waren.

Nach 5tägigem Aufenthalt im Brütschrank wurden dann die sämmtlichen Proben — mit Ausnahme natürlich der mit dem Organismus I geimpften Flüssigkeiten 1 und 2 — auf die Art der entstandenen Milchsäure geprüft.

Es ergab sich Folgendes:

Nr. der Culturflüssigkeit	Stickstoff-Nahrung	Geimpfte Organismen	Krystallwassergehalt des Zinklactats Proc.	Specifisches Drehungsvermögen des Zinklactats Grad
3	2·0 grm Pepton	Mikroorganismus I	13·83	— 7·50
4	10·0 „ „		12·66	— 7·82
1	Ammoniumsulfat	Mikroorganismus II	12·38	+ 7·71
2	Asparagin		13·78	+ 7·41
3	2·0 grm Pepton		13·52	+ 7·10
4	10·0 „ „		12·80	+ 7·39

Der bei anderen Gelegenheiten festgestellte Einfluss der Form und Menge des im Substrat vorhandenen Stickstoffes auf die Art der gebildeten Milchsäure hat sich also hier und bei unseren Bakterien



nicht wahrnehmen lassen. Mikroorganismus I erzeugt da, wo er überhaupt eine Spaltung des Milchzuckers hervorzurufen vermag, Rechtsmilchsäure, Mikroorganismus II Linksmilchsäure.

VI. Wirkung unserer Mikroorganismen in Mischculturen.

Ausser der veränderten Ernährung ist ferner, wie wir gesehen haben, unter Umständen von entscheidender Bedeutung für den Charakter und die Zusammensetzung der Stoffwechselproducte die Symbiose mit anderen Mikroorganismen. Wir haben, um auch diese Seite der Frage zu streifen, die folgenden Versuche angestellt. Aus frischer Milch wurde ein grosser, unbeweglicher Diplobacillus isolirt, der sich durch ein besonders massenhaftes Vorkommen in allen Milchproben auszeichnete, aber nach dem Ausfall einiger orientirender Prüfungen nicht zu den Säurebildnern gehörte. Dieses Bacterium haben wir dann gleichzeitig mit unseren Organismen I, II und III in je 1 Liter sterilisirter Milch übertragen, die inficirten Kolben in den Brütschrank gebracht und nach geschehener Gerinnung dann die gebildete Milchsäure analysirt. Bemerkt sei dabei noch, dass in den coagulirten Proben zwar die Diplobacillen auf dem Wege der Agarplattenculturen stets noch nachgewiesen werden konnten, dass ihre Zahl aber weit hinter der der eigentlichen Milchsäurebakterien zurückstand, ohne Zweifel, weil die von den letzteren gebildete Säure das weitere Wachsthum der ersteren schon früher zu unterdrücken vermocht hatte.

Die Resultate der chemischen Untersuchung der gebildeten Milchsäure sind die folgenden:

Impfmaterial	Gehalt des Zinkoxyds an Krystallwasser Proc.	Gehalt des Zinkoxyds an Zinkoxyd Proc.	Specifisches Drehungsvermögen des Zinklactats Grad
Mikroorganismus I + Diplobacillus	13·14	33·22	— 7·62
„ II + „	12·81	33·02	+ 7·58
„ III + „	13·18	32·52	— 7·81

Darnach hat sich ein Einfluss der Symbiose mit einem anderen Mikroorganismus auf die Form der von den Milchsäureerregern gelieferten Säure nicht zu erkennen gegeben.

Werfen wir nun auf die bisher von uns ermittelten Thatsachen einen zusammenfassenden Rückblick und ziehen wir die für die natürlichen Verhältnisse gültigen Schlüsse, so können wir zunächst wohl den Satz



aufstellen, dass das Vorkommen der inactiven Säure bei der spontanen Gerinnung der Milch allein auf die gleichzeitige Thätigkeit zweier bestimmter Bakterienarten zurückzuführen ist, von denen die eine Rechts-, die andere Linksmilchsäure bildet. Dagegen sind die Symbiose der Milchsäurebakterien mit irgend welchen anderen Mikroorganismen, oder die chemischen Differenzen der frischen und der sterilisirten Milch hier ohne jeden Einfluss, und von den früher erörterten Möglichkeiten, die uns den auffälligen Unterschied zwischen der aus spontan geronnener und mit Reinculturen inficirter Milch gewonnenen Säure erklären sollten, hat sich also nur die an dritter und letzter Stelle behandelte bewahrheitet. Unsere Versuche haben nun aber weiter gezeigt, dass im Widerspruch mit der landläufigen Anschauung in spontan geronnener Milch thatsächlich häufig genug nicht die inactive Form, sondern reine Rechtsmilchsäure gefunden wird, und sie haben uns endlich auch über den Grund dieser Erscheinung unterrichtet: wir wissen jetzt, dass Rechtsmilchsäure bildende Bakterien unter allen Umständen in der Milch vorhanden und wirksam sind, während Linksmilchsäure erzeugende erst bei höherer Temperatur eingreifen und sich an den Ereignissen betheiligen. Die Dinge spielen sich dabei im Einzelnen so ab, dass zunächst bei gewöhnlicher Temperatur der Bacillus I die Scene beherrscht: es entsteht ausschliesslich Rechtsmilchsäure; je mehr nun die Aussentemperatur ansteigt, um so energischer entwickelt sich neben ihm Bacillus II: die von ihm gelieferte Linksmilchsäure vereinigt sich mit einer entsprechenden Menge Rechtsmilchsäure zur inactiven, racemischen Modification, und wir begegnen also einem Gemisch der beiden Formen, in dem die inactive Art mit der Erhöhung der Temperatur immer überwiegt. Ohne Bedeutung für diesen Vorgang und das endliche Ergebniss ist es, dass zugleich mit dem Hervortreten der Linksmilchsäurebacillen dann auch noch ein zweites Rechtsmilchsäurebacterium, der Coccus III nämlich, zu üppigem Wachsthum gelangt.

Um für die Richtigkeit dieser unserer Auffassung einen letzten experimentellen Beweis zu erbringen, haben wir endlich noch den folgenden Versuch angestellt: 6 Kolben mit je 1 Liter sterilisirter Milch wurden geimpft; 1, 2, 3 und 4 mit Bacillus I und II, 5 und 6 dagegen mit Bacillus II und Coccus III. Die Kolben 1, 2, 5 und 6 wurden darauf in den Brütschrank gebracht, 3 und 4 bei Zimmerwärme aufbewahrt. Schon nach 48 Stunden waren jene, nach 4 Tagen diese Proben geronnen. Bei diesem Versuche haben wir die Milch, welche mit den Organismen II und III inficirt war, nur bei Brütwärme aufgestellt, weil die Säureproduction dieser Bakterienformen bei Zimmerwärme eine sehr beschränkte ist.



Die chemische Untersuchung der isolirten Milchsäure gab folgendes Resultat.

Nr. der Kolben	Geimpfte Organismen	Temperatur	Gehalt des Zinkoxyds an		Specifisches Drehungsvermögen des Zinklactats Grad
			Krystallwasser Proc.	Zinkoxyd Proc.	
3	Bacillus I u. II	12—14	14·00	33·33	— 6·66
4	„	12—14	14·07	33·41	— 7·12
1	„	36—39	16·07	33·78	— 7·66
2	„	36—39	17·19	32·45	— 1·25
5	Bac. II u. Cocc. III	36—39	18·21	33·39	± 0
6	„	36—39	18·57	33·38	± 0

Obwohl sich in der bei Zimmertemperatur gehaltenen Milch also neben einander Rechts- und Linksmilchsäure erzeugende Bakterien vorfanden, ist es hier doch nur zur Bildung der Rechtsmilchsäure gekommen; in den bei Brütwärme aufbewahrten Kolben dagegen ist durch das nun ermöglichte Zusammenwirken der beiden verschiedenen Bakterienarten, und zwar entweder des Bacillus I oder des Coccus III mit dem Bacillus II, Rechts- und Linksmilchsäure in fast gleicher Menge entstanden und also die inactive Form so gut wie allein gebildet worden, neben der sich nur in den Proben 1 und 2 noch ein bescheidener Rest von überschüssiger Rechtsmilchsäure erhalten hat.

Es mag im Zusammenhange mit diesen Befunden auch nochmals an die bereits erwähnten Beobachtungen von Leichmann erinnert werden, der feststellen konnte, dass in einer Milch, die bei abnorm hohen Temperaturen (zwischen 44 und 52° C.) zur Gerinnung gebracht worden war, ebenfalls neben Rechtsmilchsäure bildenden Mikroorganismen, und zwar seinem Micrococcus lactis acidi, Linksmilchsäure erzeugende, der „Bacillus lactis acidi" auftreten. Unter Umständen sollen die letzteren sogar ein so entscheidendes Uebergewicht erlangen, dass in den betreffenden Proben reine Linksmilchsäure entsteht und also das gerade Gegentheil des unter gewöhnlichen Verhältnissen obwaltenden Vorganges stattgefunden hat. Wir haben im Laufe unserer Untersuchungen keine Gelegenheit gehabt, die Leichmann'schen Ergebnisse zu bestätigen und sind, wie Günther und Thierfelder, niemals der reinen Linksmilchsäure oder einem Gemisch derselben mit der inactiven Form begegnet. Freilich haben wir uns auch in keinem Falle jener hohen Temperatur bedient, die Leichmann bei seinen Experimenten benutzte, und es muss deshalb dahingestellt bleiben, ob sich unsere Linksmilchsäurebakterien nicht



unter den gleichen Bedingungen auch zu noch kräftigeren Leistungen erhoben und das Gährungsproduct in ihrem Sinne bestimmt haben würden. Die daneben auftauchende Frage, ob denn unsere Mikroorganismen mit den von Leichmann gefundenen oder den von anderen Forschern beschriebenen Bakterien überhaupt identisch seien oder nicht, soll im folgenden Abschnitt noch genauer erörtert werden.

VII. Vergleich unserer Mikroorganismen mit den schon beschriebenen.

Nachdem die wichtigsten morphologischen und physiologischen Eigenschaften unserer Mikroorganismen, sowie die Rolle, welche sie bei der spontanen Milchgerinnung spielen, festgestellt worden sind, bleibt nur noch übrig, die Frage zu beantworten: Sind diese Mikroorganismen mit den bereits beschriebenen und in der Litteratur verzeichneten identisch, oder erscheinen sie als neue, bisher unbekannte Arten? Eine sichere Beantwortung dieser Frage würde keine Schwierigkeiten machen, wenn uns Culturen der sämmtlichen hier in Betracht kommenden Mikrobien zur Verfügung ständen und damit ein genauer Vergleich möglich würde. Leider müssen wir auf dieses zuverlässigste Hülfsmittel aber vielfach verzichten und uns mit den mehr oder minder vollständigen Angaben begnügen, die sich in den Schilderungen der einzelnen Beobachter finden. Dass dabei Irrthümer und Verwechselungen nicht zu vermeiden sind, ist schon Angesichts der Schwankungen, denen die biologischen Eigenschaften der meisten Bakterien unterliegen, wohl begreiflich, und nur bei einigen, besonders charakteristischen Arten wird sich diese Unsicherheit weniger bemerkbar machen. Bei den Milchsäureerregern kommt dann noch eine weitere Schwierigkeit hinzu, die namentlich auch Weigmann[1] schon hervorgehoben, dass nämlich manche der hierher gehörigen Mikroorganismen sich nur kümmerlich auf unseren gebräuchlichen Substraten entwickeln und bei dem Fehlen cultureller Kennzeichen deshalb die noch unbestimmteren morphologischen Verwendung finden müssen.

Trotz dieser Hindernisse werden sich aber auch in unserem Falle gewisse Thatsachen mit der erforderlichen Sicherheit feststellen lassen.

Betrachten wir zunächst den Bacillus I, die Rechtsmilchsäure bildende und für die spontane Gerinnung nach unseren Beobachtungen wichtigste Art, so muss einmal auffallen, dass dieser Mikroorganismus mit dem von Hüppe beschriebenen und meist als Erreger der Milchsäuregährung betrachteten „Bacillus acidi lactici“ in

[1] A. a. O.



vielen wesentlichen Punkten nicht übereinstimmt. So soll der Hüppe'sche Bacillus Sporen tragen, in zuckerhaltigen Nährböden Gas erzeugen, eine ausgesprochene Neigung zum Oberflächenwachsthum zeigen und nur bei Zutritt von Sauerstoff gedeihen, während alle diese Merkmale bei unserem Bacillus fehlen, der dagegen durch die kettenförmigen Verbände in Zuckerbouillon und die spärliche Entwickelung auf zuckerfreien Substraten charakterisirt ist. Auch mehrere, in unserem Laboratorium gehaltene Stämme der Hüppe'schen Mikroorganismen liessen die gleichen Differenzen erkennen und entsprachen dem von Hüppe entworfenen Bilde bis auf die Sporenbildung, die wir stets vermisst haben.

Dem Hüppe'schen Bacillus nahe verwandt sind dann auch die beiden Arten, die Grotenfelt[1] isolirt und als „Bacillus acidi lactici II" und „Bacterium acidi lactici" bezeichnet hat. Das von Marpmann[2] entdeckte und durch eine dicke Kapsel charakterisirte „Bacterium libatum acidi lactici" ist von unseren Mikroorganismen noch schärfer unterschieden und kann um so eher unberücksichtigt bleiben, als es augenscheinlich nur selten in der Milch vorkommt und keine allgemeine Bedeutung für die Gerinnung beanspruchen kann. Dagegen decken sich die Eigenschaften unseres Bacillus in allen wesentlichen Stücken durchaus mit denen jener Bakterienarten, die Leichmann, ferner Günther und Thierfelder und endlich Weigmann aus geronnener Milch gewonnen und denen sie die wichtigste Rolle bei der Entstehung der Gährung zuerkannt haben. Die Kettenbildung in Zuckerbouillon, das Ausbleiben des Oberflächenwachsthums in Stichculturen, die spärliche Entwickelung auf zuckerfreien Substraten, das Fehlen der Sporen und der Gasproduction und die Erzeugung von Rechtsmilchsäure bei der Zerlegung des Zuckers finden sich hier wie dort ganz in der gleichen Weise verzeichnet, und man wird deshalb die völlige Gleichheit dieser Mikrobien füglich kaum in Zweifel ziehen können.

In welchen Beziehungen stehen diese Mikroorganismen nun zum Hüppe'schen Bacillus? Die Ansichten der einzelnen genannten Forscher gehen über diesen Punkt zur Zeit noch aus einandor. Während Leichmann seinen Bacillus als eine neue, von dem Bacillus acidi lactici Hüppe sicher verschiedene Species anspricht und Weigmann sich seiner Anschauung auch in diesem Punkte durchaus anschliesst, nehmen Günther und Thierfelder keinen Anstand, ihren Mikroorganismus trotz der vorhandenen und wohl bemerkten Abweichungen mit dem Hüppe'schen zu identificiren. Wir können dieser letzteren Ansicht nicht beipflichten. Gewiss soll man sich bei den Schwankungen, die die morphologischen und mehr noch die biologischen Eigenschaften vieler Bakterien zeigen,



[1] A. a. O. [2] A. a. O.



hüten, nach geringfügigen Differenzen selbstständige Arten aufzustellen, deren Trennungszeichen der Sicherheit entbehren und unberechtigt sind. Aber auf der anderen Seite darf man doch auch nicht in den entgegengesetzten Fehler verfallen und Unterscheidungsmerkmale von dem Umfange und der Festigkeit der hier beobachteten als gleichgültig betrachten. Wir fürchten deshalb nicht den Thatsachen Zwang anzuthun und als neuerungssüchtige Umstürzler zu erscheinen, wenn wir die von uns, von Leichmann, von Günther und Thierfelder und von Weigmann beschriebenen, bei der Milchsäuregährung in hervorragendem Maasse betheiligten und unter einander übereinstimmenden Bakterien[1] von dem Hüppe'schen Bacillus acidi lactici abgrenzen und einer besonderen, selbstständigen Art zuweisen. Leichmann hat derselben bereits den Namen „Bacterium lactis acidi" verliehen, wir möchten vorschlagen, sie im Hinblick auf ihre physiologische Rolle und um Verwechselungen auszuschliessen, als „Bacillus acidi paralactici", Bacillus der Rechtsmilchsäure, zu bezeichnen.

Wir kommen nun zu Bacillus II. Auch er ist ein ständiger Bewohner der natürlichen Milch, unterscheidet sich aber von dem eben besprochenen Bacillus durch seine früher genau geschilderten morphologischen und biologischen Eigenschaften im schärfsten Maasse. Dagegen stösst seine sichere Trennung von anderen in der Litteratur verzeichneten und Linksmilchsäure bildenden Mikroorganismen auf grosse Schwierigkeiten. Allerdings ist die Mehrzahl derjenigen Mikrobien, an denen man bisher diese Fähigkeit wahrgenommen hat, nicht in der Milch, sondern unter anderen Verhältnissen gefunden worden und weicht von unserem Bacillus auch sonst in jedem Punkte deutlich ab. Nur ein in diese Gruppe gehöriger Mikroorganismus, der „Bacillus acidi laevolactici" von Schardinger,[2] macht eine Ausnahme und zeigt manche Aehnlichkeiten, wenn andererseits auch das dort beobachtete Vorkommen langer Fäden, die schleimige Beschaffenheit der Bouillonculturen, die rothbraune Verfärbung der Gelatine in der Umgebung der Colonieen bei unserem Bacillus nicht zur Beobachtung gelangen. Aus der Milch stammt unter den bisher beschriebenen Linksmilchsäurebakterien allein der von Leichmann[3] entdeckte Mikroorganismus,

---

[1] Der in jedem Emmenthaler Käse von v. Freudenreich vorgefundene „ovale Coccus" scheint nach seiner eigenen Ansicht mit dem Leichmann'schen und dem von Lloyd in Cheddarkäse stets in reichlicher Menge gefundenen Bacillus identisch zu sein. *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde.* 1897. Abth. II. S. 231 und 1898. S. 277.

[2] A. a. O.

[3] *Milchzeitung.* 1896. S. 65. — *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde.* 1896. Abth. II. S. 777.



„Bacillus lactis acidi", der aber schon durch sein morphologisches Verhalten von unserem Bacillus unterschieden ist. So sind z. B. die Gasentwickelung in zuckerhaltigen Nährböden, das schnelle und üppige Wachsthum auf gewöhnlichen zuckerfreien Substraten, die kräftige Oberflächenwucherung in Stichculturen, die Bildung eines sich über die Impfstelle hinaus verbreiternden Streifens in Strichculturen und der ringförmige Belag an der Oberfläche der Bouillon, wo sie das Reagensglas berührt, Eigenschaften, die unseren Bacillus charakterisiren, aber an dem Leichmann'schen nicht zu beobachten sind. Wenn also die Entscheidung der Frage, ob unser Bacillus mit einem der in der Litteratur überhaupt beschriebenen identisch ist oder nicht, dahingestellt bleiben muss, so sind wir doch gewiss berechtigt, zu sagen, dass das Vorkommen dieser Bakterienform in der Milch zum ersten Male durch unsere Untersuchungen constatirt worden ist. Um den in Rede stehenden Bacillus von dem Organismus I und von Bacillus acidi laevolactici Schardinger's in einfacher Weise auch durch den Namen zu unterscheiden möchten wir vorschlagen, ihn als „Bacillus acidi laevolactici Halensis" zu kennzeichnen.

Es bleibt uns nun noch die Aufgabe, die Organismen der Gruppe III näher zu betrachten.

Vergleichen wir die hierher gehörigen Kokken mit den schon in der Litteratur behandelten Arten, so ergiebt sich Folgendes. Vom „Micrococcus lactis I" Hüppe ist unser Coccus dadurch sicher zu unterscheiden, dass jenes Gelatine nicht verflüssigt. Auch „Micrococcus acidi lactici" und „Sphaerococcus acidi lactici" Marpmann, sowie ferner „Streptococcus acidi lactici" Grotenfelt vermögen die Gelatine nicht zu erweichen und heben sich dadurch ohne Weiteres von unserem Coccus ab. Dagegen zeigt dieser letztere mit „Micrococcus lactis II" Hüppe einige Aehnlichkeit, der die Gelatine gleichfalls peptonisirt, aber freilich auf der Oberfläche der Gelatine Colonieen von Linsengrösse und darüber bildet, während die Colonieen unseres Coccus bei Zimmerwärme nie zu so beträchtlichem Umfange heranwachsen. Nahe Beziehungen scheinen ferner zu bestehen zum „Micrococcus acidi lactici" Krüger: das häufige Auftreten in Gestalt von Diplokokken, das Fehlen längerer Ketten oder grösserer Packete, die Verflüssigung der Gelatine, die Bildung von Pepton aus dem geronnenen Casein sind beiden Mikroorganismen gemeinsam. Verschieden ist dagegen der Einfluss auf die Milch. Während der Krüger'sche Coccus hier eine der spontanen ähnliche Coagulation hervorruft, erzeugt unser Coccus ein ungemein festes Gerinnsel, über dem sich dann grosse Mengen klaren Serums abscheiden. Auch sei bemerkt, dass der Krüger'sche Mikroorganismus die Milch bei 15° C. schon in 5 Tagen gerinnen lässt, unser Coccus dagegen bei dieser Tem-

peratur so gut wie völlig unwirksam ist. Das von Fokker[1] beschriebene, die Gelatine verflüssigende Kugelbacterium soll der Milch bei der Coagulation eine gelbe Färbung verleihen und damit eine Fähigkeit besitzen, von der bei unserem Coccus nie etwas bemerkt wurde. Im Uebrigen stösst die Identificirung unseres Mikroorganismus auch mit den ihm sonst anscheinend nahe verwandten und ähnlichen Arten insofern auf eine grosse Schwierigkeit, als bei jenen anderen Mikrobien die Natur der gebildeten Milchsäure Seitens der betheiligten Forscher nicht bestimmt ist, und also dieser wichtige Punkt ganz ausser Betracht bleiben muss. Nur ein hierher gehöriges Bacterium macht eine Ausnahme und fesselt auch aus anderen Gründen unsere Aufmerksamkeit in erster Linie: der von Leichmann[2] aus Milchproben gewonnene Coccus, die bei ungewöhnlich hoher Temperatur zur Gerinnung gekommen waren. Die Erzeugung von Rechtsmilchsäure, die fehlende Gasbildung, das bevorzugte Wachsthum bei höherer Temperatur finden wir bei beiden Arten in der gleichen Weise. Auf der anderen Seite lässt der Leichmann'sche Coccus das kräftige Gedeihen auch auf zuckerfreien Substraten, die Neigung zum Oberflächenwachsthum, das feste Coagulum und die reichliche Ausscheidung von Serum, sowie die allmähliche Peptonisirung des ausgefällten Caseïns, also eine Reihe der für unseren Coccus besonders wichtigen und charakteristischen Eigenschaften, vermissen, und man wird die Frage nach der Uebereinstimmung der beiden Arten deshalb wohl nicht ohne Weiteres bejahen können. Dazu kommt nun noch eine morphologische Differenz. Hervorgehoben haben wir früher schon das regelmässige Vorhandensein einer dicken Kapsel bei unserem Coccus, während bei dem Leichmann'schen hiervon nichts erwähnt ist. Da man gewiss nicht annehmen kann, dass eine so auffällige Erscheinung dem Beobachter entgangen sein sollte, so neigen wir im Allgemeinen doch zu der Ansicht, dass wir es hier mit einem besonderen, bisher nicht beschriebenen Mikroorganismus zu thun haben, dem wir den Namen „Micrococcus acidi paralactici liquefaciens Halensis“ geben möchten.

VIII. Kurze Zusammensetzung der wichtigsten Ergebnisse.

Fassen wir nun zum Schluss die Ergebnisse unserer Untersuchungen noch einmal kurz zusammen, so sei uns zunächst eine grundsätzliche Vorbemerkung gestattet, die für die Beurtheilung unserer Befunde von

[1] A. a. O.

[2] *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde.* 1896. Abth. II. S. 777.

entscheidender Bedeutung ist und deshalb gerade hier an bevorzugter Stelle ihren Platz finden möge.

Unsere Beobachtungen weichen in manchen wesentlichen Punkten von den Resultaten ab, zu denen andere, und zwar sehr hervorragende Forscher gelangt sind, und stehen vielfach in directem Gegensatz zu den bisher gültigen Anschauungen. Wir halten es nicht für ausgeschlossen, dass dieser Widerspruch sich aus örtlichen, um nicht zu sagen geographischen Verschiedenheiten erklärt, die bei der Milchsäuregährung eine Rolle spielen. Gerade die Thatsache, dass sehr zahlreiche Mikroorganismen mit der Fähigkeit begabt sind, den Milchzucker unter Bildung von Milchsäure zu zerspalten und das Caseïn zur Gerinnung zu bringen, lässt die Vermuthung wohl begründet erscheinen, dass auch unter natürlichen Verhältnissen bald die einen, bald die anderen im Vordergrunde des Ereignisses stehen und damit auch die Art der gebildeten Säure wechselt. So lange nicht Untersuchungen von anderer Seite unsere Erfahrungen bestätigt haben, sind wir daher weit entfernt, den letzteren allgemeine und unbedingte Bedeutung beizulegen.

Mit dieser principiellen Einschränkung haben unsere Ermittelungen ergeben:

1. Die in spontan geronnener Milch gebildete Säure ist entweder reine Rechtsmilchsäure, oder inactive Milchsäure, oder ein Gemisch dieser beiden Formen.

2. Von entscheidender Bedeutung für das Auftreten der einen oder der anderen Art ist die Temperatur, bei der sich die Gährung vollzieht. Bei Zimmerwärme entsteht in der Regel reine Rechtsmilchsäure, bei Brütwärme dagegen inactive Milchsäure.

3. Als ursächliche Erreger dieser Vorgänge sind drei scharf von einander verschiedene Bakterienarten thätig: der „Bacillus acidi paralactici“, der „Bacillus acidi laevolactici Halensis“ und der „Micrococcus acidi paralactici liquefaciens Halensis“, von denen der erste und dritte Rechtsmilchsäure, der zweite Linksmilchsäure liefern.

4. Die häufigste und wichtigste Art ist der Bacillus acidi paralactici, der mit dem „Bacillus acidi lactici“ Hüppe nicht übereinstimmt.

5. Bei gewöhnlicher Temperatur (Zimmerwärme) wird die Gährung der Milch, wenn nicht ausschliesslich, so doch vorzugsweise durch den „Bacillus acidi paralactici“ hervorgerufen. Bei höheren Wärmegraden betheiligen sich auch die beiden anderen Arten an dem Vorgange.



6. Die Entstehung der inactiven Milchsäure in der freiwillig geronnenen Milch ist nicht durch das Zusammenwirken beliebiger anderer Bakterien mit den Rechtsmilchsäurebildnern, namentlich dem „Bacillus acidi paralactici“, sondern allein durch die gleichzeitige Thätigkeit des Linksmilchsäure erzeugenden „Bacillus acidi laevolactici Halensis“ bedingt.

7. Die allgemeinen oder besonderen Ernährungsverhältnisse des Milchsäureerreger, namentlich auch Art und Menge ihrer Stickstoffquelle, sind ohne Einfluss auf die Natur der von ihnen gebildeten Säure.

Anhang.

Analytische Details.

Tabelle I. **Versuche mit spontan geronnenen Milchproben.**

Nr. der Milchproben	Krystallwasser- und ZnO-Bestimmung			Die Bestimmung des specifischen Drehungsvermögens[1]	
	Angewandte Menge grm	Gewichtsverlust bei 120° C. grm	Geliefertes ZnO grm	Die Anzahl Gramme des Zinklactats in 25 ccm Lösung	Ablenkungswinkel bei 15° C. in Minuten
1	0·801	0·110	0·2290	1·000	— 38
2	0·275	0·0365	0·0790	0·670	— 23
3	0·400	0·0520	0·1160	0·500	— 17
4	0·1685	0·0220	0·0490	0·500	— 18
5	0·400	0·0590	0·1130	0·600	— 20
6	0·520	0·0840	0·1440	0·650	— 8
7	0·320	0·0470	0·090	0·500	— 8
8a	0·500	0·0680	0·1390	0·600	— 22
8b	0·352	0·0520	0·1000	0·600	— 10
9a	0·620	0·0820	0·1829	1·000	— 36
9b	0·360	0·0682	0·0895	0·500	± 0
10a	0·420	0·0580	0·1200	0·450	— 15
10b	0·500	0·0825	0·1380	0·600	— 10
11a	0·600	0·0840	0·1710	0·800	— 29
11b	0·500	0·0904	0·1360	0·500	± 0

[1] Für die Bestimmung des specifischen Drehungsvermögens haben wir gelbes Licht, entsprechend der Fraunhofer'schen D-Linie und das 200 mm - Rohr benutzt.



von vielen Seiten eine bedeutende Rolle in der Aetiologie der Mandelentzündungen zugeschrieben, auch geben sie als Erreger von Secundärinfectionen zu gefürchteten Complicationen bei der Diphtherie und anderen Krankheiten Anlass. Ihr Vorkommen auf den normalen Tonsillen musste deshalb meine Aufmerksamkeit in hohem Maasse in Anspruch nehmen; ich verzichtete daher zunächst auf die genauere Feststellung der übrigen, die Gaumenmandeln bewohnenden Mikroorganismen und suchte an einem grösseren Material festzustellen: 1. wie oft die Streptokokken auf gesunden Tonsillen sich vorfinden, und 2. ob die daselbst vorhandenen von den bei Anginen gewonnenen durch constante Merkmale zu unterscheiden sind?

Werfen wir zunächst einen Blick auf die Publicationen, welche die Erforschung der Bakterien der Mundhöhle zum Gegenstande haben, so sehen wir, dass in den ersten Arbeiten von Rapin[1] (1881) und Rasmussen[1] (1883) Streptokokken überhaupt nicht genannt werden. Auch Vignal[1] (1886), welcher seinen eigenen Zahn- und Zungenschleim nach wiederholter sorgfältiger Reinigung des Mundes durch Ausspülen und Bürsten der Zähne mit sterilisirten Instrumenten untersuchte und darin 17 verschiedene Mikroorganismen entdeckte, erwähnt die Streptokokken nicht. Erst Biondi[2] (1887) fand gelegentlich der Untersuchung des Speichels von 50 Fällen bei 3 Personen, welche an schweren Affectionen der Mundhöhle litten, einen für Thiere pathogenen Streptococcus, den er als Str. septico-pyaemicus bezeichnet. Black[3] (1887) constatirte sodann bei 10 Gesunden, welchen er den Zungenrücken oder irgend einen Theil der Mundschleimhaut mit einem ausgeglühten Platindraht abstrich, 3 Mal Streptokokken. Netter[4] (1888) verimpfte nach der von Pasteur empfohlenen Methode kleine Mengen Speichel von 127 Individuen auf Meerschweinchen und Mäuse und fand bei 7 = 5·5 Procent Streptococcus pyogenes. Kurth[5] (1889) giebt in einem im Verein für innere Medicin zu Berlin, Sitzung vom 26. X. 1889, gehaltenen Vortrage die Frequenz des Vorkommens von Streptokokken auf den Mandeln Gesunder nach der Litteratur zu 4·5 bis 8 Procent an und empfiehlt zum Nachweis derselben die Bouilloncultur; bei 5 Individuen hat er selbst jedoch vergeblich nach ihnen gesucht, sondern nur eine ähnliche, leicht zu übersehende Bakterien-

[1] Vignal, Recherches sur les microorganismes de la bouche. *Archives de physiologie normale et pathol.* 1886. Ser. 3. T. VIII.

[2] Die pathogenen Mikroorganismen des Speichels. *Diese Zeitschrift.* 1887. Bd. II.

[3] *Independent Practitioner.* 1887. Nr. 8. Citirt nach Miller: *Die Mikroorganismen der Mundhöhle.* 2. Aufl. S. 308.

[4] Microbes pathogènes contenus dans la bouche de sujets sains. *Revue d'hygiène.* 1889. XI.

[5] *Berliner klin. Wochenschrift.* 1889. Nr. 45.



art angetroffen, welche er als Dauerform von Streptokokken anzusprechen geneigt ist. In einer späteren ausführlichen Arbeit[1] nennt er dieselben Zahlen, sagt aber ausdrücklich: „Wahrscheinlich würde die Verhältnisszahl noch grösser sein, wenn gleichzeitig mit der Plattenaussaat nach der orientirenden Methode der unmittelbaren Impfung der auf Anwesenheit von Streptokokken zu untersuchenden unreinen Substanz in Bouillon verfahren wird. Durch mehrfache Controlversuche, wobei ich mit grösseren Mengen anderer, aus der Mundhöhle gezüchteter Bakterien wenige Streptokokkenkeime in Nährbouillon überimpfte, habe ich mich überzeugt, dass nach 24stündigem Stehen bei 36° in dem reichlichen Bodensatz der anderen Bakterienart jedes Mal bei der mikroskopischen Untersuchung auch zahlreiche Ketten zu finden waren. Aus diesem Gemenge liess sich dann durch Plattenaussaat der Streptococcus gleichfalls leicht wieder gewinnen. Während es bei der unmittelbaren Aussaat des Mundschleimes in Agarplatten leicht sich ereignen kann, dass man unter den zahlreich aufgehenden mannigfachen Colonieen gerade die kleinen Kolonieen der Streptokokken übersieht, wird man nach Feststellung des Vorkommens derselben durch die Methode der vorläufigen Impfung in Bouillon den Antrieb zum sorgfältigen nochmaligen Durchmustern der Platten erhalten und, wenn dies doch vergeblich geblieben ist, aus dem Mischröhrchen Platten giessen.“

Podbielsky[2] (1890) fand bei der Untersuchung des mit Zungen- und Zahnbelag vermischten Speichels von 50 Personen (25 Erwachsene, 25 Kinder) einmal bei einem 7monatlichen Kinde Streptokokken.

Schweighofer[3] (1892) hat aus 7 normalen Mundhöhlen einen Streptococcus isolirt, welcher schwer fortzuzüchten und wenig virulent war.

Miller[4] berichtet in seiner ausgezeichneten Monographie, dass er 111 Thierimpfungen mit gemischtem menschlichen Speichel in die Bauchhöhle ausgeführt habe; dieselben ergaben in 77 Procent das Vorhandensein von eitererregenden Mikroorganismen, meist Kokken in genügender Zahl, um schwere Erkrankung der Versuchsthiere zu erzeugen. Die Art

---

[1] Ueber die Unterscheidung der Streptokokken und über das Vorkommen derselben, insbesondere des Streptococcus conglomeratus, bei Scharlach. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* VII. Berlin 1891.

[2] Untersuchung der Mikroben der Mundhöhle von Erwachsenen und Kindern im gesunden Zustande. *Dissertation.* Kasan 1890. Referat in *Centralblatt für Bakteriologie.* 1891. Bd. IX.

[3] Citirt nach Dörnberger, Ueber das Vorkommen der Streptokokken in der normalen und kranken Mundhöhle des Kindes. *Jahrbuch für Kinderheilkunde.* N. F. 1893. Bd. XXXV.

[4] A. a. O.



der Kokken hat er nicht näher festgestellt, auch nicht angegeben, ob der Speichel von gesunden oder kranken Menschen stammte.

Rosenthal[1] (1893) untersuchte Gesunde mit cariösen Zähnen in der Weise, dass er die Mundhöhle einige Stunden nach dem Mittagsmahle mit 10 ccm sterilisirten Wassers ausspülen liess und von dem Spülwasser Culturen anlegte. Unter 14 Fällen begegnete er 6 Mal einem Streptococcus colli gracilis, welcher nach seiner Angabe bisher nur aus dem Darmcanal und Koth von Fleischfressern und aus dem mit Luftkeimen inficirten Koth von Neugeborenen gezüchtet ist.

Dörnberger[2] (1893) hat mit ausgeglühter Platinöse etwas Schleim von den Mandeln abgenommen, denselben nach der von Kurth empfohlenen Methode auf ein Bouillonröhrchen verimpft und nach 24stündigem Brüten die darin gewachsenen Bakterien mikroskopisch geprüft. Mit Behring und v. Lingelsheim theilt er die Streptokokken ein in longi, die unter Umständen virulent sind, und breves, stets unschuldige, constante Bewohner der Mundhöhle. Ketten bis zu 12 Gliedern zählt er zu letzteren, darüber zu ersteren. Er fand unter 40 gesunden Individuen bei 18 = 45 Procent, unter 54 Anginen bei 43 = 79.6 Procent lange Streptokokken.

Widal und Bezançon[3] (1894) geben in einer mir leider nur im Referat zugänglichen Arbeit an, dass sie früher bei 20 Gesunden Streptokokken in der Mundhöhle gefunden und dieselben bei erneuter Untersuchung von 49 mit allgemeinen Krankheiten oder auf die Mundhöhle und den Rachen ausgedehnten Infectionszuständen Behafteten immer angetroffen hätten. Die Streptokokken der normalen Mundhöhle erwiesen sich als nicht pathogen, die Virulenz der anderen schwankte; alle Streptokokken sind jedoch befähigt, gelegentlich eine Steigerung ihrer Virulenz zu erfahren.

Veillon[4] (1894) behauptet, dass auf sämmtlichen normalen und kranken Tonsillen ein Streptocoque de la salive vorhanden sei, der durch Mangel von Virulenz, Bildung kurzer Ketten in Bouillon und deutliches Wachsthum auf Kartoffel von dem Streptococcus pyogenes unterschieden ist, somit dem Streptococcus brevis v. Lingelsheim's entspricht. Er hält denselben für einen ganz unschuldigen und bedeutungslosen Para-

---

[1] Ein Beitrag zur Kenntniss der Bakterienflora der Mundhöhle. *Inaug.-Dissert.* Erlangen 1893.

[2] A. a. O.

[3] Les streptocoques de la bouche normale et pathol. ***Revue trimestrielle suisse** d'Odontologie.* 1894. Referat in *Centralblatt für **Bakteriologie.*** **1894. Bd. XVI.**

[4] Recherches sur l'étiologie et la pathogénie des angines **aigues non diphtériques.** *Thèse.* Paris 1894.

[Aus dem Königl. hygienischen Institut der Universität zu Königsberg i/Pr.]
(Director: Prof. Dr. E. v. Esmarch.)

Ueber das constante Vorkommen langer Streptokokken auf gesunden Tonsillen und ihre Bedeutung für die Aetiologie der Anginen.

Von

Dr. **Paul Hilbert**,
Privatdocent der inneren Medicin.

Die in der normalen Mundhöhle wuchernden Bakterien sind wiederholt Gegenstand gründlichster Studien gewesen, haben u. A. in Deutschland durch Miller,[1] in Frankreich durch David[2] eine ausgezeichnete monographische Bearbeitung erfahren; den Tonsillen speciell ist jedoch in diesen, hauptsächlich zahnärztliche Interessen berücksichtigenden Werken, wie auch in anderen, denselben Gegenstand behandelnden Arbeiten wenig Berücksichtigung zu Theil geworden. Da ich nun gelegentlich meiner Untersuchungen über Mischinfection bei Diphtherie erkannte, von welcher Bedeutung eine eingehende Kenntniss der die normalen Mandeln bevölkernden Mikroben für manche Fragen der Pathologie ist, fasste ich zunächst den Plan, alle auf den Mandeln vorkommenden Bakterien einer genauen Prüfung zu unterwerfen. Bei den daraufhin gerichteten Bemühungen, welche unter Benutzung der verschiedensten Nährböden angestellt wurden, ergab sich eine grosse Zahl verschiedener Arten, deren Bestimmung zum Theil auf ausserordentliche Schwierigkeiten stiess, auffallend war jedoch von vornherein das regelmässige Vorhandensein von Streptokokken. Diesen pathogenen Pilzen wird bekanntlich gegenwärtig

---

[1] *Die Mikroorganismen der Mundhöhle.* 2. Aufl. Leipzig 1892.
[2] *Les Microbes de la bouche.* Paris 1890.



von vielen Seiten eine bedeutende Rolle in der Aetiologie der Mandelentzündungen zugeschrieben, auch geben sie als Erreger von Secundärinfectionen zu gefürchteten Complicationen bei der Diphtherie und anderen Krankheiten Anlass. Ihr Vorkommen auf den normalen Tonsillen musste deshalb meine Aufmerksamkeit in hohem Maasse in Anspruch nehmen; ich verzichtete daher zunächst auf die genauere Feststellung der übrigen, die Gaumenmandeln bewohnenden Mikroorganismen und suchte an einem grösseren Material festzustellen: 1. wie oft die Streptokokken auf gesunden Tonsillen sich vorfinden, und 2. ob die daselbst vorhandenen von den bei Anginen gewonnenen durch constante Merkmale zu unterscheiden sind?

Werfen wir zunächst einen Blick auf die Publicationen, welche die Erforschung der Bakterien der Mundhöhle zum Gegenstande haben, so sehen wir, dass in den ersten Arbeiten von Rapin[1] (1881) und Rasmussen[1] (1883) Streptokokken überhaupt nicht genannt werden. Auch Vignal[1] (1886), welcher seinen eigenen Zahn- und Zungenschleim nach wiederholter sorgfältiger Reinigung des Mundes durch Ausspülen und Bürsten der Zähne mit sterilisirten Instrumenten untersuchte und darin 17 verschiedene Mikroorganismen entdeckte, erwähnt die Streptokokken nicht. Erst Biondi[2] (1887) fand gelegentlich der Untersuchung des Speichels von 50 Fällen bei 3 Personen, welche an schweren Affectionen der Mundhöhle litten, einen für Thiere pathogenen Streptococcus, den er als Str. septico-pyaemicus bezeichnet. Black[3] (1887) constatirte sodann bei 10 Gesunden, welchen er den Zungenrücken oder irgend einen Theil der Mundschleimhaut mit einem ausgeglühten Platindraht abstrich, 3 Mal Streptokokken. Netter[4] (1888) verimpfte nach der von Pasteur empfohlenen Methode kleine Mengen Speichel von 127 Individuen auf Meerschweinchen und Mäuse und fand bei 7 = 5·5 Procent Streptococcus pyogenes. Kurth[5] (1889) giebt in einem im Verein für innere Medicin zu Berlin, Sitzung vom 26. X. 1889, gehaltenen Vortrage die Frequenz des Vorkommens von Streptokokken auf den Mandeln Gesunder nach der Litteratur zu 4·5 bis 8 Procent an und empfiehlt zum Nachweis derselben die Bouilloncultur; bei 5 Individuen hat er selbst jedoch vergeblich nach ihnen gesucht, sondern nur eine ähnliche, leicht zu übersehende Bakterien-

[1] Vignal, Recherches sur les microorganismes de la bouche. *Archives de physiologie normale et pathol.* 1886. Ser. 3. T. VIII.

[2] Die pathogenen Mikroorganismen des Speichels. *Diese Zeitschrift.* 1887. Bd. II.

[3] *Independent Practitioner.* 1887. Nr. 8. Citirt nach Miller: *Die Mikroorganismen der Mundhöhle.* 2. Aufl. S. 308.

[4] Microbes pathogènes contenus dans la bouche de sujets sains. *Revue d'hygiène.* 1889. XI.

[5] *Berliner klin. Wochenschrift.* 1889. Nr. 45.



art angetroffen, welche er als Dauerform von Streptokokken anzusprechen geneigt ist. In einer späteren ausführlichen Arbeit[1] nennt er dieselben Zahlen, sagt aber ausdrücklich: „Wahrscheinlich würde die Verhältnisszahl noch grösser sein, wenn gleichzeitig mit der Plattenaussaat nach der orientirenden Methode der unmittelbaren Impfung der auf Anwesenheit von Streptokokken zu untersuchenden unreinen Substanz in Bouillon verfahren wird. Durch mehrfache Controlversuche, wobei ich mit grösseren Mengen anderer, aus der Mundhöhle gezüchteter Bakterien wenige Streptokokkenkeime in Nährbouillon überimpfte, habe ich mich überzeugt, dass nach 24stündigem Stehen bei 36° in dem reichlichen Bodensatz der anderen Bakterienart jedes Mal bei der mikroskopischen Untersuchung auch zahlreiche Ketten zu finden waren. Aus diesem Gemenge liess sich dann durch Plattenaussaat der Streptococcus gleichfalls leicht wieder gewinnen. Während es bei der unmittelbaren Aussaat des Mundschleimes in Agarplatten leicht sich ereignen kann, dass man unter den zahlreich aufgehenden mannigfachen Colonieen gerade die kleinen Kolonieen der Streptokokken übersieht, wird man nach Feststellung des Vorkommens derselben durch die Methode der vorläufigen Impfung in Bouillon den Antrieb zum sorgfältigen nochmaligen Durchmustern der Platten erhalten und, wenn dies doch vergeblich geblieben ist, aus dem Mischröhrchen Platten giessen."

Podbielsky[2] (1890) fand bei der Untersuchung des mit Zungen- und Zahnbelag vermischten Speichels von 50 Personen (25 Erwachsene, 25 Kinder) einmal bei einem 7monatlichen Kinde Streptokokken.

Schweighofer[3] (1892) hat aus 7 normalen Mundhöhlen einen Streptococcus isolirt, welcher schwer fortzuzüchten und wenig virulent war.

Miller[4] berichtet in seiner ausgezeichneten Monographie, dass er 111 Thierimpfungen mit gemischtem menschlichen Speichel in die Bauchhöhle ausgeführt habe; dieselben ergaben in 77 Procent das Vorhandensein von eitererregenden Mikroorganismen, meist Kokken in genügender Zahl, um schwere Erkrankung der Versuchsthiere zu erzeugen. Die Art

[1] Ueber die Unterscheidung der Streptokokken und über das Vorkommen derselben, insbesondere des Streptococcus conglomeratus, bei Scharlach. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* VII. Berlin 1891.

[2] Untersuchung der Mikroben der Mundhöhle von Erwachsenen und Kindern im gesunden Zustande. *Dissertation.* Kasan 1890. Referat in *Centralblatt für Bakteriologie.* 1891. Bd. IX.

[3] Citirt nach Dörnberger, Ueber das Vorkommen der Streptokokken in der normalen und kranken Mundhöhle des Kindes. *Jahrbuch für Kinderheilkunde.* N. F. 1893. Bd. XXXV.

[4] A. a. O.



der Kokken hat er nicht näher festgestellt, auch nicht angegeben, ob der Speichel von gesunden oder kranken Menschen stammte.

Rosenthal[1] (1893) untersuchte Gesunde mit cariösen Zähnen in der Weise, dass er die Mundhöhle einige Stunden nach dem Mittagsmahle mit 10 ccm sterilisirten Wassers ausspülen liess und von dem Spülwasser Culturen anlegte. Unter 14 Fällen begegnete er 6 Mal einem Streptococcus colli gracilis, welcher nach seiner Angabe bisher nur aus dem Darmcanal und Koth von Fleischfressern und aus dem mit Luftkeimen inficirten Koth von Neugeborenen gezüchtet ist.

Dörnberger[2] (1893) hat mit ausgeglühter Platinöse etwas Schleim von den Mandeln abgenommen, denselben nach der von Kurth empfohlenen Methode auf ein Bouillonröhrchen verimpft und nach 24stündigem Brüten die darin gewachsenen Bakterien mikroskopisch geprüft. Mit Behring und v. Lingelsheim theilt er die Streptokokken ein in longi, die unter Umständen virulent sind, und breves, stets unschuldige, constante Bewohner der Mundhöhle. Ketten bis zu 12 Gliedern zählt er zu letzteren, darüber zu ersteren. Er fand unter 40 gesunden Individuen bei 18 = 45 Procent, unter 54 Anginen bei 43 = 79.6 Procent lange Streptokokken.

Widal und Bezançon[3] (1894) geben in einer mir leider nur im Referat zugänglichen Arbeit an, dass sie früher bei 20 Gesunden Streptokokken in der Mundhöhle gefunden und dieselben bei erneuter Untersuchung von 49 mit allgemeinen Krankheiten oder auf die Mundhöhle und den Rachen ausgedehnten Infectionszuständen Behafteten immer angetroffen hätten. Die Streptokokken der normalen Mundhöhle erwiesen sich als nicht pathogen, die Virulenz der anderen schwankte; alle Streptokokken sind jedoch befähigt, gelegentlich eine Steigerung ihrer Virulenz zu erfahren.

Veillon[4] (1894) behauptet, dass auf sämmtlichen normalen und kranken Tonsillen ein Streptocoque de la salive vorhanden sei, der durch Mangel von Virulenz, Bildung kurzer Ketten in Bouillon und deutliches Wachsthum auf Kartoffel von dem Streptococcus pyogenes unterschieden ist, somit dem Streptococcus brevis v. Lingelsheim's entspricht. Er hält denselben für einen ganz unschuldigen und bedeutungslosen Para-

---

[1] Ein Beitrag zur Kenntniss der Bakterienflora der Mundhöhle. *Inaug.-Dissert.* Erlangen 1893.

[2] A. a. O.

[3] Les streptocoques de la bouche normale et pathol. *Revue trimestrielle suisse d'Odontologie.* 1894. Referat in *Centralblatt für Bakteriologie.* 1894. Bd. XVI.

[4] Recherches sur l'étiologie et la pathogénie des angines aigues non diphtériques. *Thèse.* Paris 1894.

siten; für das Vorkommen des Streptococcus pyogenes in der Mundhöhle führt er die von Netter gefundenen Zahlen an.

Anitschkoff-Platonoff[1] (1897) constatirten bei verschiedenen Krankheitszuständen im Speichel Streptokokken, am häufigsten bei Angina. Auf Grund von 25, mit einer Mischung von Speichel und Zungenbelag ausgeführten Thierimpfungen geben sie die Frequenz derselben zu 40 Proc. an und kommen zu dem Schluss, dass im Speichel von Kranken die pyogenen Kokken überwiegen.

Es würde zu weit führen, wollten wir alle gelegentlich niedergelegten Bemerkungen über das Vorkommen von Streptokokken in der Mundhöhle und auf den Mandeln hier citiren, zumal aus den kurzen Notizen meist nicht ersichtlich ist, ob die Forscher sich auf eigene Untersuchungen oder eine der oben citirten stützen. Zum Beweise, wie weit die Ansichte bezüglich der Häufigkeit derselben unter normalen Verhältnissen divergiren, führe ich nur an, dass v. Dungern[2] ihre constante Anwesenheit in der Mundhöhle behauptet, Baumgarten[3] sie dagegen nur ausnahmsweise gesehen hat, während Hübener[4] und Barthel[5] (Letzterer auf Grund von Untersuchungen an Leichen) ihr Vorkommen als ein häufiges bezeichnen. In den Lehrbüchern von Fränkel und von Heim finden sich die Angaben, dass virulente Streptokokken in der normalen Mundhöhle enthalten sein können, während bei Flügge[6] bemerkt ist, dass im Munde Gesunder zuweilen Streptococcus brevis vorhanden ist, welcher in Bouillon Ketten von höchstens 4 bis 6 Gliedern bildet und für Thiere fast gar keine Pathogenität besitzt.

Diese kurze Uebersicht ergiebt also, dass den ersten Untersuchern Streptokokken als Bewohner der Mundhöhle nicht bekannt waren, dass dieselben von Biondi zuerst im Speichel Kranker, von Black auf der Mundschleimhaut Gesunder festgestellt wurden. Netter giebt die Frequenz pathogener Streptokokken im normalen Speichel auf Grund exacter Thier-

[1] Die Verunreinigung der Mundhöhle bei Kranken durch Mikroben. *Militärmedicin. Journal.* 1897. Bd. IX. Referat in *Centralblatt für Bakteriologie.* 1898. Bd. XXIII.

[2] Die Bedeutung der Mischinfection bei Diphtherie. Ziegler's *Beiträge.* 1896. Bd. XXI.

[3] Untersuchungen über die Pathogenese u. Aetiologie der diphtherischen Membranen. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1897. Nr. 31.

[4] Ueber die Möglichkeit der Wundinfection vom Munde aus und ihre Verhütung durch Operationsmasken. *Diese Zeitschrift.* 1898. Bd. XXVIII.

[5] Ueber den Bakteriengehalt der Luftwege. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1898. Bd. XXIV.

[6] *Die Mikroorganismen.* 1896. Abschnitt Mikrokokken, bearbeitet von Frosch und Kolle.





versuche zu 5·5 Procent an, spätere Autoren wiesen sie häufiger, Dörnberger z. B. bei 45 Procent auf gesunden Mandeln nach. Widal und Bezançon behaupten, dass sie stets auf normalen Tonsillen anzutreffen seien, fanden die von denselben gezüchteten jedoch nicht pathogen. Veillon ist der Ansicht, dass die regelmässig im Munde vorhandenen Streptokokken zu der Gattung Streptoc. brevis gehören und unschuldige Saprophyten darstellen, welche von dem Streptoc. pyogenes durch Culturverfahren mit Sicherheit zu unterscheiden seien. Die letztere Anschauung ist in dem Flügge'schen Lehrbuche vertreten, während andere Forscher das Vorkommen virulenter Streptokokken in der gesunden Mundhöhle zugeben, in den Angaben über die Häufigkeit dieses Befundes jedoch erheblich von einander abweichen.

Bei den nachfolgenden eigenen Untersuchungen habe ich mich der von Behring und v. Lingelsheim eingeführten Eintheilung der Streptokokken in longi und breves als der einfachsten und von den Meisten acceptirten angeschlossen, obgleich mir wohl bekannt ist, dass dieselbe nicht ohne Widerspruch geblieben ist,[1] und habe, da nach den eingehenden Arbeiten dieser Autoren nur den lange Ketten bildenden Streptokokken mit Sicherheit eine pathologische Bedeutung zugeschrieben werden kann, zunächst an einem grösseren Materiale versucht, festzustellen, wie oft Streptococcus longus auf gesunden Mandeln angetroffen wird. Zu diesem Zwecke erwies sich die Untersuchung der mit dem Schleim von Tonsillen direct angefertigten gefärbten Trockenpräparate als ganz ungeeignet; in denselben findet man bei Gesunden kaum je, bei Kranken ganz ausnahmsweise längere Ketten. Der Grund hierfür ist darin zu suchen, dass die Streptokokken, auch wenn sie noch so pathogene Eigenschaften haben, im menschlichen und thierischen Körper in der Regel nur zu ganz kurzen Ketten auswachsen, worauf v. Lingelsheim[2] aufmerksam gemacht hat und was ich auf Grund eigener, zahlreicher Versuche durchaus bestätigen kann. Man ist also auf die Anlegung von Culturen angewiesen. Die festen Nährböden, Glycerinagar und Blutserum, auf welchen Streptokokken gut gedeihen, sind zu diesem Behufe ebenfalls nicht zu verwerthen, weil auf denselben längere Ketten gewöhnlich nicht gebildet werden. Es blieb also nur die gewöhnliche Nährbouillon übrig, welche auch Kurth bereits für den Nachweis von Streptokokken in der Mundhöhle besonders empfohlen

[1] Vgl. hierzu die nachträglichen Bemerkungen zur Eintheilung der Streptokokken am Schluss dieser Arbeit.

[2] Experimentelle Untersuchungen über morphologische, culturelle u. pathogene Eigenschaften verschiedener Streptokokken in Behring's *Gesammelten Abhandlungen zur ätiologischen Therapie von ansteckenden Krankheiten.* Leipzig 1893.



October 1897 bis Februar 1898, die letzten 25 in der Zeit vom September bis November 1898. Das Alter schwankte zwischen 1 und 61 Jahren, die Mehrzahl bildeten Kinder und jugendliche Individuen. Dieselben litten an den verschiedenartigsten Krankheiten, doch wurden nur solche Patienten ausgewählt, welche nicht fieberten und deren Mandeln und Mundhöhlen keinerlei Entzündungserscheinungen darboten, sondern sich möglichst normal verhielten. In Tabelle I sind die bezüglichen Angaben und die bei der Untersuchung erhaltenen Resultate zusammengestellt; da es mir lediglich darauf ankam, zu ermitteln, wie oft lange Streptokokken vorhanden seien, ist in Tabelle I nur das Vorkommen dieser erwähnt, das kürzerer Ketten, welche sich überall neben den mittellangen und sehr langen zeigten, fortgelassen.

Ein Blick auf die Tabelle I lehrt, dass in sämmtlichen Fällen Streptokokken gefunden wurden, welche zu der Gattung Longus zu rechnen sind, und zwar, wenn ich die von mir gewählten Bezeichnungen einführe, waren 33 Mal sehr lange, 5 Mal mittellange vorhanden, 12 Mal ist die einfache Angabe Streptcc. longus verzeichnet.

In einer Reihe von Fällen ist sowohl Bouillonröhrchen I, wie auch II untersucht (das Original und die Verdünnung), und zeigt ein Vergleich der dabei erhaltenen Resultate, wie viel sicherer gerade in Bezug auf die Länge der gewonnenen Streptokokken die Prüfung von II ist. Nur 2 Mal glückte es hier nicht sofort, lange Ketten zu erzielen, und wurde deshalb eine Agarcultur von II angelegt und die daselbst reichlich gewachsenen Streptokokken auf Bouillon übergeimpft, woselbst sie dann zu langen Ketten auswuchsen.

Die in Tabelle I niedergelegten Untersuchungen lehren, dass bei an den verschiedensten Krankheiten leidenden, fieberlosen Individuen auf den durchaus normal sich verhaltenden Mandeln regelmässig Ketten bildende Kokken der Art vorhanden sind, welche gemeinhin zu den pathogenen gerechnet wird. Da aber gegen eine Verallgemeinerung des Befundes immerhin der Einwand erhoben werden konnte, dass sämmtliche Untersuchte Kranke gewesen sind, entschloss ich mich auf Anrathen des Hrn. Prof. v. **Esmarch**, eine grössere Reihe vollkommen normaler Kinder in der gleichen Weise zu untersuchen. Gelegenheit hierzu bot sich mir durch das freundliche Entgegenkommen des Hrn. Collegen **Rosenstock** jun., Schularztes hierselbst. Mit seiner gütigen Unterstützung habe ich am 6. December 1898 von 50 Schülerinnen der V. Classe einer hiesigen Bürgerschule, deren Alter zwischen 8 und 11 Jahren schwankte, Schleim von den Mandeln entnommen. Die Entnahme geschah durch einmaliges rasches Ueberwischen über beide Tonsillen mit einem an einem Draht befestigten sterilen Wattebausch, welcher durch einen an dem anderen



Ende des Drahtes befindlichen Pfropfen in ein Glasröhrchen eingeschlossen wurde, also genau in der Weise, wie hierorts die Entnahme diphtherieverdächtigen Materiales behufs bakteriologischer Untersuchung üblich ist. Die Glasröhrchen mit den Wattetupfern waren vor dem Gebrauche 2 Mal im Trockenschranke sterilisirt und sodann Proben davon durch Anlegen von Bouillonculturen geprüft und keimfrei befunden worden. Sofort nach der Abimpfung begab ich mich in das Institut zurück und legte von allen 50 Proben Bouillonröhrchen I und II in der vorher beschriebenen Weise an, welche sodann für 24 Stunden in dem Brütschrank bei 37° gehalten wurden. Da die Untersuchung sämmtlicher Culturen mehrere Tage in Anspruch nahm, wurden dieselben nach 24stündigem Brüten im Eisschranke aufbewahrt.

Gleichzeitig wurden Blutserumplatten mit dem Tonsillarschleim bestrichen, um auf etwa vorhandene Diphtheriebacillen zu fahnden, worüber ich später berichten werde.

Die Resultate dieser Untersuchung von Schulkindern sind in Tabelle II niedergelegt. Um ein Urtheil über die Häufigkeit des Vorkommens der Ketten von verschiedener Länge zu ermöglichen, ist in jedem Falle notirt, zu welcher Gruppe die gefundenen Streptokokken gehörten und welche Art überwiegend angetroffen wurde.

Das Resultat der Untersuchung der von gesunden Schulkindern während des Unterrichtes entnommenen Schleimproben ist, dass in allen Fällen auf den Tonsillen lange Ketten bildende Streptokokken gefunden wurden, und zwar 41 Mal sehr lange, 9 Mal mittellange. Dieser Befund wurde 47 Mal bei der Durchmusterung des ersten Deckglaspräparates erhoben; 1 Mal (Nr. 48) musste ein zweites Präparat angefertigt werden, da in dem ersten nur kurze Ketten zu Gesicht kamen; 1 Mal (Nr. 23) waren im Bouillonröhrchen II, wahrscheinlich in Folge einer Verunreinigung, sehr reichlich andere Mikroben gewachsen und vielleicht deshalb (vgl. oben) nur kurze Ketten zu finden, während im Bouillonröhrchen I neben kurzen reichlich mittellange vorhanden waren, die sich theilweise schon den sehr langen näherten. Auch bei Nr. 21 wurden wohl wegen reichlicher Entwickelung anderer Bakterien in I und II spärlich kurze und ganz vereinzelte Exemplare mittellanger Ketten gefunden, in einer von II angelegten Verdünnung (eine Oese auf ein frisches Bouillonröhrchen) entwickelten sich massenhaft Streptokokken, darunter auch zahlreiche mittellange und einzelne sehr lange. Gerade dieser Fall ist aber insofern sehr lehrreich, als er beweist, dass auch das Fehlen längerer Ketten in Bouillonröhrchen II noch nicht gegen die Anwesenheit von Streptococcus longus spricht; denn als ich, um die Streptokokken dieses Falles

Tabelle II. Untersuchung des Tonsillarschleimes von 50 Schülerinnen einer Bürgerschule zu Königsberg i. Pr. auf Streptokokken und Diphtheriebacillen.

Nummer	Alter i. Jahren	Zustand der Tonsillen	Streptokokken in Bouillonröhrchen II	Beschaffenheit der Reincultur der Streptokokken in Bouillon	Virulenz der Streptokokken (weisse Maus, mit 0·2 ccm 24 std. Bouilloncultur intraperitoneal geimpft, stirbt nach Tagen)	Diphtheriebacillen auf Blutserumschälchen. + = vorhanden, — = nicht vorhanden
1	9	Normal	Kurze, mittellange und sehr lange Ketten.	Nicht untersucht.	Nicht untersucht.	— Diphtherieverdächtige Stäbchen. Thiervers. neg.
2	9	„	Kurze, mittellange und massenhaft sehr lange Ketten in dichten Gewirren.	Leicht getrübt, nach mehrtägigem Stehen klar mit spärlichem, krümligem Bodensatz. Mikr.: kurze und mittellange Ketten.	Bleibt am Leben.	—
3	10	Etwas vergrössert	Vorwieg. kurze, spärl. mittellange u. sehr lange Ketten.	nicht untersucht	Nicht untersucht.	—
4	10	Normal	Kurze und mittellange Ketten.	Schwach getrübt mit fein flockigem Bodensatz, nach längerem Stehen klar mit fadenziehendem Bodensatz. Mikr.: kurze und mittellange Ketten.	42. Section ergiebt keine bemerkenswerthen Veränderungen. Im Abstrich von Bauchhöhle spärlich Streptokokken gefunden.	—
5	10	Rechte vergrössert	Kurze, mittellange, vereinzelt sehr lange Ketten.	Nicht untersucht.	Nicht untersucht.	—
6	10	Normal	Kurze, reichlich mittellange, vereinzelt sehr lange Ketten, z. Th. in Gewirren.	Fast klar, nach längerem Stehen klar mit geringem Bodensatz. Mikr.: vorwiegend kleine, spärlich mittelgrosse Ketten.	Bleibt am Leben	—
7	9	„	Vereinzelt kurze, massenhaft mittellange und sehr lange Ketten in dichten Gewirren.	Nicht untersucht.	Nicht untersucht.	—



Tabelle II. (Fortsetzung.)

Nummer	Alter i. Jahren	Zustand der Tonsillen	Streptokokken in Bouillonröhrchen II	Beschaffenheit der Reincultur der Streptokokken in Bouillon	Virulenz der Streptokokken (weisse Maus, mit 0·2 ccm 24 std. Bouilloncultur intraperitoneal geimpft, stirbt nach Tagen)	Diphtheriebacillen auf Blutserumschälchen. + = vorhanden, — = nicht vorhanden.
8	9	Normal	Kurze, mittellange und sehr lange Ketten.	Nicht untersucht.	Nicht untersucht.	—
9	9	„	Spärl. kurze, reichl. mittellange u. sehr lange Ketten.	„ „	„ „	—
10	10	Linke stark vergrössert	Reichl. kurze, mittellange u. besonders sehr lange Ketten, z. Th. in dichten Gewirren.	„ „	„ „	—
11	9	Normal	Reichlich kurze und mittellange, vereinzelt sehr lange Ketten.	Leicht getrübt, nach länger. Stehen klar mit fadenziehendem Bodensatz. Mikr.: vorwieg. mittellang. u. sehr lang. Ketten, z. Th. in Gewirren.	5.[1] Section ergiebt keine besonderen Veränderungen. Aus Milz und Herzblut werden Streptokokken gezüchtet.	— Diphtherieverdächtige Stäbchen. Thierversuch negativ.
12	10	Rechte vergrössert	Spärlich kurze, einzelne sehr lange Ketten, z. Th. in dicht verfilzten Gewirren.	Nicht untersucht	Nicht untersucht.	—
13	9	Normal	Reichlich kurze und mittellange, vereinzelt sehr lange Ketten.	Getrübt, später klar mit geringem Bodensatz. Mikr.: vorwiegend kurze, spärlich mittellange Ketten.	1.[2] In Bauchhöhle und Herzblut Streptokokken nachgewies.	—
14	9	Etwas vergrössert	Reichl. kurze, spärl. mittellange u. sehr lange Ketten.	Nicht untersucht.	Nicht untersucht.	—

[1] Da die zu diesem Versuch verwendete Maus kleiner war, als die sonst gebrauchten, wurde derselben nur 0·15 ccm der 24stündigen Bouilloncultur (etwa entsprechend dem Körpergewicht) eingespritzt.

[2] Die zu diesen Versuchen benutzten Mäuse waren nur etwa halb so gross, wie die sonst gebrauchten, und erhielten dementsprechend nur 0·1 ccm intraperitoneal.



October 1897 bis Februar 1898, die letzten 25 in der Zeit vom September bis November 1898. Das Alter schwankte zwischen 1 und 61 Jahren, die Mehrzahl bildeten Kinder und jugendliche Individuen. Dieselben litten an den verschiedenartigsten Krankheiten, doch wurden nur solche Patienten ausgewählt, welche nicht fieberten und deren Mandeln und Mundhöhlen keinerlei Entzündungserscheinungen darboten, sondern sich möglichst normal verhielten. In Tabelle I sind die bezüglichen Angaben und die bei der Untersuchung erhaltenen Resultate zusammengestellt; da es mir lediglich darauf ankam, zu ermitteln, wie oft lange Streptokokken vorhanden seien, ist in Tabelle I nur das Vorkommen dieser erwähnt, das kürzerer Ketten, welche sich überall neben den mittellangen und sehr langen zeigten, fortgelassen.

Ein Blick auf die Tabelle I lehrt, dass in sämmtlichen Fällen Streptokokken gefunden wurden, welche zu der Gattung Longus zu rechnen sind, und zwar, wenn ich die von mir gewählten Bezeichnungen einführe, waren 33 Mal sehr lange, 5 Mal mittellange vorhanden, 12 Mal ist die einfache Angabe Streptcc. longus verzeichnet.

In einer Reihe von Fällen ist sowohl Bouillonröhrchen I, wie auch II untersucht (das Original und die Verdünnung), und zeigt ein Vergleich der dabei erhaltenen Resultate, wie viel sicherer gerade in Bezug auf die Länge der gewonnenen Streptokokken die Prüfung von II ist. Nur 2 Mal glückte es hier nicht sofort, lange Ketten zu erzielen, und wurde deshalb eine Agarcultur von II angelegt und die daselbst reichlich gewachsenen Streptokokken auf Bouillon übergeimpft, woselbst sie dann zu langen Ketten auswuchsen.

Die in Tabelle I niedergelegten Untersuchungen lehren, dass bei an den verschiedensten Krankheiten leidenden, fieberlosen Individuen auf den durchaus normal sich verhaltenden Mandeln regelmässig Ketten bildende Kokken der Art vorhanden sind, welche gemeinhin zu den pathogenen gerechnet wird. Da aber gegen eine Verallgemeinerung des Befundes immerhin der Einwand erhoben werden konnte, dass sämmtliche Untersuchte Kranke gewesen sind, entschloss ich mich auf Anrathen des Hrn. Prof. v. Esmarch, eine grössere Reihe vollkommen normaler Kinder in der gleichen Weise zu untersuchen. Gelegenheit hierzu bot sich mir durch das freundliche Entgegenkommen des Hrn. Collegen Rosenstock jun., Schularztes hierselbst. Mit seiner gütigen Unterstützung habe ich am 6. December 1898 von 50 Schülerinnen der V. Classe einer hiesigen Bürgerschule, deren Alter zwischen 8 und 11 Jahren schwankte, Schleim von den Mandeln entnommen. Die Entnahme geschah durch einmaliges rasches Ueberwischen über beide Tonsillen mit einem an einem Draht befestigten sterilen Wattebausch, welcher durch einen an dem anderen



Ende des Drahtes befindlichen Pfropfen in ein Glasröhrchen eingeschlossen wurde, also genau in der Weise, wie hierorts die Entnahme diphtherieverdächtigen Materiales behufs bakteriologischer Untersuchung üblich ist. Die Glasröhrchen mit den Wattetupfern waren vor dem Gebrauche 2 Mal im Trockenschranke sterilisirt und sodann Proben davon durch Anlegen von Bouillonculturen geprüft und keimfrei befunden worden. Sofort nach der Abimpfung begab ich mich in das Institut zurück und legte von allen 50 Proben Bouillonröhrchen I und II in der vorher beschriebenen Weise an, welche sodann für 24 Stunden in dem Brütschrank bei 37° gehalten wurden. Da die Untersuchung sämmtlicher Culturen mehrere Tage in Anspruch nahm, wurden dieselben nach 24stündigem Brüten im Eisschranke aufbewahrt.

Gleichzeitig wurden Blutserumplatten mit dem Tonsillarschleim bestrichen, um auf etwa vorhandene Diphtheriebacillen zu fahnden, worüber ich später berichten werde.

Die Resultate dieser Untersuchung von Schulkindern sind in Tabelle II niedergelegt. Um ein Urtheil über die Häufigkeit des Vorkommens der Ketten von verschiedener Länge zu ermöglichen, ist in jedem Falle notirt, zu welcher Gruppe die gefundenen Streptokokken gehörten und welche Art überwiegend angetroffen wurde.

Das Resultat der Untersuchung der von gesunden Schulkindern während des Unterrichtes entnommenen Schleimproben ist, dass in allen Fällen auf den Tonsillen lange Ketten bildende Streptokokken gefunden wurden, und zwar 41 Mal sehr lange, 9 Mal mittellange. Dieser Befund wurde 47 Mal bei der Durchmusterung des ersten Deckglaspräparates erhoben; 1 Mal (Nr. 48) musste ein zweites Präparat angefertigt werden, da in dem ersten nur kurze Ketten zu Gesicht kamen; 1 Mal (Nr. 23) waren im Bouillonröhrchen II, wahrscheinlich in Folge einer Verunreinigung, sehr reichlich andere Mikroben gewachsen und vielleicht deshalb (vgl. oben) nur kurze Ketten zu finden, während im Bouillonröhrchen I neben kurzen reichlich mittellange vorhanden waren, die sich theilweise schon den sehr langen näherten. Auch bei Nr. 21 wurden wohl wegen reichlicher Entwickelung anderer Bakterien in I und II spärlich kurze und ganz vereinzelte Exemplare mittellanger Ketten gefunden, in einer von II angelegten Verdünnung (eine Oese auf ein frisches Bouillonröhrchen) entwickelten sich massenhaft Streptokokken, darunter auch zahlreiche mittellange und einzelne sehr lange. Gerade dieser Fall ist aber insofern sehr lehrreich, als er beweist, dass auch das Fehlen längerer Ketten in Bouillonröhrchen II noch nicht gegen die Anwesenheit von Streptococcus longus spricht; denn als ich, um die Streptokokken dieses Falles



Tabelle II. **Untersuchung des Tonsillarschleimes von 50 Schülerinnen einer Bürgerschule zu Königsberg i. Pr. auf Streptokokken und Diphtheriebacillen.**

Nummer	Alter i. Jahren	Zustand der Tonsillen	Streptokokken in Bouillonröhrchen II	Beschaffenheit der Reincultur der Streptokokken in Bouillon	Virulenz der Streptokokken (weisse Maus, mit 0·2 ccm 24 std. Bouilloncultur intraperitoneal geimpft, stirbt nach Tagen)	Diphtheriebacillen auf Blutserumschälchen. + = vorhanden, — = nicht vorhanden
1	9	Normal	Kurze, mittellange und sehr lange Ketten.	Nicht untersucht.	Nicht untersucht.	—
2	9	„	Kurze, mittellange und massenhaft sehr lange Ketten in dichten Gewirren.	Leicht getrübt, nach mehrtägigem Stehen klar mit spärlichem, krümligem Bodensatz. Mikr.: kurze und mittellange Ketten.	Bleibt am Leben.	Diphtherieverdächtige Stäbchen. Thiervers. neg. —
3	10	Etwas vergrössert	Vorwieg. kurze, spärl. mittellange u sehr lange Ketten.	nicht untersucht	Nicht untersucht.	—
4	10	Normal	Kurze und mittellange Ketten.	Schwach getrübt mit fein flockigem Bodensatz, nach längerem Stehen klar mit fadenziehendem Bodensatz. Mikr.: kurze und mittellange Ketten.	42. Section ergiebt keine bemerkenswerthen Veränderungen. Im Abstrich von Bauchhöhle spärlich Streptokokken gefunden.	—
5	10	Rechte vergrössert	Kurze, mittellange, vereinzelt sehr lange Ketten.	Nicht untersucht.	Nicht untersucht.	—
6	10	Normal	Kurze, reichlich mittellange, vereinzelt sehr lange Ketten, z. Th in Gewirren.	Fast klar, nach längerem Stehen klar mit geringem Bodensatz. Mikr.: vorwiegend kleine, spärlich mittelgrosse Ketten.	Bleibt am Leben	—
7	9	„	Vereinzelt kurze, massenhaft mittellange und sehr lange Ketten in dichten Gewirren.	Nicht untersucht.	Nicht untersucht.	—

Tabelle II. (Fortsetzung.)

Nummer	Alter i. Jahren	Zustand der Tonsillen	Streptokokken in Bouillonröhrchen II	Beschaffenheit der Reincultur der Streptokokken in Bouillon	Virulenz der Streptokokken (weisse Maus, mit 0·2 ccm 24 std. Bouilloncultur intraperitoneal geimpft, stirbt nach Tagen)	Diphtheriebacillen auf Blutserumschälchen. + = vorhanden, — = nicht vorhanden.
8	9	Normal	Kurze, mittellange und sehr lange Ketten.	Nicht untersucht.	Nicht untersucht.	—
9	9	„	Spärl. kurze, reichl. mittellange u. sehr lange Ketten.	„ „	„ „	—
10	10	Linke stark vergrössert	Reichl. kurze, mittellange u. besonders sehr lange Ketten, z. Th. in dichten Gewirren.	„ „	„ „	—
11	9	Normal	Reichlich kurze und mittellange, vereinzelt sehr lange Ketten.	Leicht getrübt, nach länger. Stehen klar mit fadenziehendem Bodensatz. Mikr.: vorwieg. mittellang. u. sehr lang. Ketten, z. Th. in Gewirren.	5.[1] Section ergiebt keine besonderen Veränderungen. Aus Milz und Herzblut werden Streptokokken gezüchtet.	— Diphtherieverdächtige Stäbchen. Thierversuch negativ.
12	10	Rechte vergrössert	Spärlich kurze, einzelne sehr lange Ketten, z. Th. in dicht verfilzten Gewirren.	Nicht untersucht	Nicht untersucht.	—
13	9	Normal	Reichlich kurze und mittellange, vereinzelt sehr lange Ketten.	Getrübt, später klar mit geringem Bodensatz. Mikr.: vorwiegend kurze, spärlich mittellange Ketten.	1.[2] In Bauchhöhle und Herzblut Streptokokken nachgewies.	—
14	9	Etwas vergrössert	Reichl. kurze, spärl. mittellange u. sehr lange Ketten.	Nicht untersucht.	Nicht untersucht.	—

[1] Da die zu diesem Versuch verwendete Maus kleiner war, als die sonst gebrauchten, wurde derselben nur 0·15 ccm der 24stündigen Bouilloncultur (etwa entsprechend dem Körpergewicht) eingespritzt.

[2] Die zu diesen Versuchen benutzten Mäuse waren nur etwa halb so gross, wie die sonst gebrauchten, und erhielten dementsprechend nur 0·1 ccm intraperitoneal.



behufs Virulenzprüfung rein zu züchten, eine Oese von II auf Glycerinagar verimpft hatte und davon eine Reincultur in Bouillon anlegte, bestand diese ausschliesslich aus riesig langen Ketten, welche grösstentheils über mehrere Gesichtsfelder sich hinzogen und in Gewirren mit einander verschlungen waren.

Somit ist der Beweis geliefert, dass bei 100 Individuen auf den gesunden Tonsillen ausnahmslos lange Ketten bildende Kokken vorhanden gewesen sind, und müssen deshalb die Angaben der Autoren dahin modificirt, bezw. ergänzt werden, dass der Streptococcus longus als regelmässiger Bewohner der normalen Mandeln anzusehen ist.

Es harrte nun noch die Frage der Erledigung, ob die auf normalen Mandeln wuchernden Streptokokken durch constante culturelle oder biologische Eigenschaften von denen der entzündeten Tonsillen unterschieden werden können.

Wie aus der Litteratur bekannt, bilden Streptokokken einen der häufigsten Befunde bei der bakteriologischen Untersuchung der Anginen. Ich selbst entsinne mich nicht, unter sehr zahlreichen eigenen Untersuchungen von Mandelbelägen diphtherischer und nicht diphtherischer Natur die Streptokokken je vermisst zu haben. Da hierbei jedoch nur feste Nährböden, Blutserum und Glycerinagar benutzt waren, hatte ich über die Länge der Ketten kein Urtheil. Deshalb behandelte ich, um mich in dieser Beziehung zu orientiren, zuvörderst einige der dem Institute eingelieferten Proben nach meiner Methode; es waren 10 Fälle, darunter 6 Diphtherien, 3 Anginen mit Belag ohne Löffler'sche Bacillen, eine Scharlachangina. Bei allen wurden in Bouillonröhrchen II neben kurzen auch lange Ketten constatirt, 6 Mal sehr lange, 4 Mal mittellange. Irgend einen Unterschied gegenüber den von normalen Tonsillen erhaltenen Resultaten vermochte ich nicht zu ermitteln.

Ich legte sodann von je 10 normalen und pathologischen Fällen Reinculturen der Streptokokken in Bouillon, Glycerinagar und zum Theil auch auf Kartoffelscheiben an und nahm mit allen Virulenzprüfungen vor. Als Versuchsthiere dienten weisse Mäuse möglichst gleicher Grösse, weil dieselben die grösste Empfänglichkeit für Streptokokken besitzen. Da es von Wichtigkeit war, zum Vergleich geeignete Ergebnisse zu erzielen, ist in jedem Falle die gleiche Menge, je 0·2 ccm der gut durchgeschüttelten, frischen, 24stündigen Bouilloncultur, intraperitoneal injicirt; die geimpften Mäuse wurden getrennt in Gläsern bei genügendem Futter aufbewahrt; nach dem Tode secirte ich sie stets und untersuchte einzelne Organe, bezw. das Blut mikroskopisch oder durch Anlegung von Culturen, um ein etwaiges Eingehen derselben in Folge zufälliger Infectionen ausschliessen zu können.



Tabelle II. (Fortsetzung.)

Nummer	Alter i. Jahren	Zustand der Tonsillen	Streptokokken in Bouillonröhrchen II	Beschaffenheit der Reincultur der Streptokokken in Bouillon	Virulenz der Streptokokken (weisse Maus, mit 0·2 ccm 24 std. Bouilloncultur intraperitoneal geimpft, stirbt nach Tagen)	Diphtheriebacillen auf Blutserumschälchen. + = vorhanden, — = nicht vorhanden.
22	9	Etwas vergrössert	Kurze, mittellange und lange Ketten.	Nicht untersucht.	Nicht untersucht.	—
23	10	„	Kurze u. mittellange Ketten, z. Th. schon den langen sich nähernd (die mittellangen wurden nur in Bouillonröhrchen I gefunden).	„ „	„ „	—
24	10	Normal	Kurze und mittellange Ketten.	„ „	„ „	— Auf der Platte fanden sich Involutionsformen von Streptokokk., welche z Th. gr. Aehnlichkeit mit Diphtheriebac. zeigten. Daher Thierversuch, welcher negativ ausfiel.
25	9	„	Kurze, mittellange und sehr lange Ketten.	„ „	„ „	—
26	10	„	Kurze und reichlich mittellange Ketten.	„ „	„ „	—
27	9	„	Kurze, mittellange und massenhaft sehr lange Ketten.	Leicht getrübt, nach längerem Stehen fast klar mit geringem Bodensatz. Mikr.: vorwiegend kurze Ketten.	„ „	— Diphtherieverdächtige Stäbchen. Thierversuch negativ.
28	9	Etwas vergrössert	Reichlich kurze, mittellange und sehr lange Ketten.	Nicht untersucht.	„ „	—
29	9	Normal	Spärlich kurze, mittellange und sehr lange Ketten.	„ „	„ „	— Pseudodiphtheriebacill. Thierversuch negativ.

Tabelle III. (Fortsetzung.)

Nr.	Namen	Alter in J.	Krankheit	Beschaffenheit der Reincultur der von den Tonsillen gezüchteten Streptokokken			Ergebniss der Virulenzprüfung. Weisse Maus, mit 0·2 ccm der 24stünd. Bouilloncultur intraperitoneal geimpft, stirbt nach Tagen:
				Bouillon	Glycerin-agar	Kartoffel	
6 (39)	Carl T.	61	Tuberculosis pulmonum.	Leicht getrübt, nach läng. Stehen klar mit feinflockigem u. fadenziehendem Bodensatz. Mikr.: mittellange Ketten.	Feinste Colonieen.	Kein deutliches Wachsthum.	4. Section: Peritonitis. In Peritonealhöhle u. Herzblut Streptokokken nachgewiesen.
7 (40)	Franz L.	13	Bronchitis.	Leicht getrübt mit ziemlich reichlichem Bodensatz; nach längerem Stehen klar mit feinflockigem u. fadenziehendem Bodensatz. Mikr.: kurze, mittellange und sehr lange Ketten.	Feine, durchsicht. Colonieen.	a) Kein deutl. Wachsthum. b Mit Herzbl. des Thiervers. b) geimpft: feine knopfförm. Colon.	a) 2. Section ergiebt nichts Besonderes. In Bauchhöhle, Herzblut, Milz Streptokokken nachgewiesen. b) 1½. Section ergiebt nichts Besonderes. Im Herzblut Streptokokken nachgewiesen.
8 (41)	Gertrud K.	11	Chorea.	Klar mit geringem, fadenziehendem Bodensatz. Mikr.: mittellange Ketten, z. Th. in Knäueln.	Feinste, stecknadelspitzgrosse Colonieen.	Weisser Rasen.	a) 23. Section ergiebt keine deutlichen Veränderungen. In Milz Streptokokken nicht gefunden. b) 10. Section ergiebt keine Veränderungen. Von Milz angel. Culturen blieben steril.
9 (43)	Bruno R.	13	Bronchitis.	Leicht getrübt mit spärl., schleimigem Bodensatz. Mikr.: mittellange und sehr lange Ketten.	Feine, durchsicht. Colonieen.	—	1. Section ergiebt keine Veränderungen. Im Herzblut Streptokokken.
10 (44)	Carl D.	44	Nephritis.	Getrübt mit spärlich. Bodensatz; nach längerem Stehen klar mit fadenziehendem Bodensatz. Mikr.: mittellange Ketten.	Feinste Colonieen.	Kaum sichtbarer Anflug. Mikr.: Involutionsformen.	37. Section ergiebt keine deutlichen Veränderungen. Von Milz und Herzblut angelegte Culturen blieben steril.

Tabelle IV. **Reinculturen und Virulenz der von erkrankten Tonsillen gezüchteten Streptokokken.**

Nr.	Namen	Alter in J.	Krankheit	Beschaffenheit der Reinculturen der von den Tonsillen gezüchteten Streptokokken.			Ergebniss der Virulenzprüfung. Weisse Maus, mit 0·2 ccm der 24stünd. Bouilloncultur intraperitoneal geimpft, stirbt nach Tagen:
				Bouillon	Glycerin-agar	Kartoffel	
1	Christine B.	8	Scharlach, starke Angina mit geringem Belag auf der linken Tonsille.	Leicht getrübt mit schleimigem Bodensatz u. krümligem Beschlag an den Wänden; nach längerem Stehen klar mit feinkörnigem Bodensatz. Mikr.: mittellange Ketten, z. Th. in Gewirren.	Feinste, punktförm. Colonieen.	—	1. Section: Milz vergrössert. Aus derselben gelingt es, Streptokokken zu züchten.
2	Walter v. S.	10	Angina lacunaris.	Leicht getrübt, nach längerem Stehen klar mit krümeligem Bodensatz. Mikr.: reichl. kurze, spärlich mittellange Ketten.	Feinste, durchsichtige Colonieen.	Kein deutliches Wachsthum.	56. Section ergab nichts Besonderes. Aus Milz und Herzblut gelang es nicht, Streptokokken zu züchten.
3	Hans O.	16	nicht diphther. Angina mit Belag.	Leicht getrübt, nach längerem Stehen klar mit reichlichem krümeligen Bodensatz. Mikr.: kurze, mittlere und lange Ketten.	Feine, durchsichtige Colonieen.	Schwach weissl. Rasen. Mikr.: Involutionsformen.	3. Section: Abscess in Bauchdecken, Peritonitis. In Bauchhöhle u. Milz Streptokokken nachgewiesen.
4	Lotte B.	8	Angina.	Leicht getrübt, nach längerem Stehen fast klar mit körnigem Bodensatz. Mikr.: kurze und mittellange Ketten.	Feinste, durch sichtige Colonieen.	Kein deutliches Wachsthum.	8. Section: Peritonitis. Von Milz angelegte Culturen bleiben steril.
5	Amande R.	18	Angina lacunaris.	Leicht getrübt, nach längerem Stehen fast klar mit fadenziehendem Bodensatz. Mikr.: kurze und mittellange Ketten.	Feine Colonieen.	Schwacher, weisslicher Rasen. Mikr.: Involutionsformen.	15. Section ergiebt nichts Bemerkenswerthes. Im Abstrich von Bauchhöhle einzelne Kokken. Von Milz angelegte Culturen bleiben steril.

behufs Virulenzprüfung rein zu züchten, eine Oese von II auf Glycerinagar verimpft hatte und davon eine Reincultur in Bouillon anlegte, bestand diese ausschliesslich aus riesig langen Ketten, welche grösstentheils über mehrere Gesichtsfelder sich hinzogen und in Gewirren mit einander verschlungen waren.

Somit ist der Beweis geliefert, dass bei 100 Individuen auf den gesunden Tonsillen ausnahmslos lange Ketten bildende Kokken vorhanden gewesen sind, und müssen deshalb die Angaben der Autoren dahin modificirt, bezw. ergänzt werden, dass der Streptococcus longus als regelmässiger Bewohner der normalen Mandeln anzusehen ist.

Es harrte nun noch die Frage der Erledigung, ob die auf normalen Mandeln wuchernden Streptokokken durch constante culturelle oder biologische Eigenschaften von denen der entzündeten Tonsillen unterschieden werden können.

Wie aus der Litteratur bekannt, bilden Streptokokken einen der häufigsten Befunde bei der bakteriologischen Untersuchung der Anginen. Ich selbst entsinne mich nicht, unter sehr zahlreichen eigenen Untersuchungen von Mandelbelägen diphtherischer und nicht diphtherischer Natur die Streptokokken je vermisst zu haben. Da hierbei jedoch nur feste Nährböden, Blutserum und Glycerinagar benutzt waren, hatte ich über die Länge der Ketten kein Urtheil. Deshalb behandelte ich, um mich in dieser Beziehung zu orientiren, zuvörderst einige der dem Institute eingelieferten Proben nach meiner Methode; es waren 10 Fälle, darunter 6 Diphtherien, 3 Anginen mit Belag ohne Löffler'sche Bacillen, eine Scharlachangina. Bei allen wurden in Bouillonröhrchen II neben kurzen auch lange Ketten constatirt, 6 Mal sehr lange, 4 Mal mittellange. Irgend einen Unterschied gegenüber den von normalen Tonsillen erhaltenen Resultaten vermochte ich nicht zu ermitteln.

Ich legte sodann von je 10 normalen und pathologischen Fällen Reinculturen der Streptokokken in Bouillon, Glycerinagar und zum Theil auch auf Kartoffelscheiben an und nahm mit allen Virulenzprüfungen vor. Als Versuchsthiere dienten weisse Mäuse möglichst gleicher Grösse, weil dieselben die grösste Empfänglichkeit für Streptokokken besitzen. Da es von Wichtigkeit war, zum Vergleich geeignete Ergebnisse zu erzielen, ist in jedem Falle die gleiche Menge, je $0 \cdot 2^{\text{ccm}}$ der gut durchgeschüttelten, frischen, 24 stündigen Bouilloncultur, intraperitoneal injicirt; die geimpften Mäuse wurden getrennt in Gläsern bei genügendem Futter aufbewahrt; nach dem Tode secirte ich sie stets und untersuchte einzelne Organe, bezw. das Blut mikroskopisch oder durch Anlegung von Culturen, um ein etwaiges Eingehen derselben in Folge zufälliger Infectionen ausschliessen zu können.



Die normalen Fälle stammen von Patienten der medicinischen Poliklinik und sind unter den 50 Fällen der Tabelle I mit enthalten, die pathologischen rühren von dem Institute eingelieferten Proben her (nicht identisch mit den oben angeführten 10). Unter den letzteren befanden sich 2 Diphtherien, 2 Scharlachanginen, 4 Anginae lacunares, eine nicht diphtheritische Angina mit Belag und eine einfache Angina. Die bei den normalen erlangten Resultate sind in Tabelle III, die der pathologischen in Tabelle IV niedergelegt.

Wenn wir zunächst Aussehen und Beschaffenheit der Bouillonculturen vergleichen, so finden wir bei den von normalen Tonsillen herrührenden Streptokokken die frischen, 24stündigen Culturen 4 Mal klar oder fast klar, 5 Mal mehr oder weniger getrübt, 1 Mal keine nähere Angabe; bei den pathologischen 3 Mal klar oder fast klar, 7 Mal leicht getrübt. Nach mehrtägigem Stehen bei Zimmertemperatur klärten sämmtliche Bouillonröhrchen sich fast vollständig auf. Die Form des Bodensatzes, auf welche bekanntlich Kurth ein besonderes Gewicht legt, zeigt auch keine bemerkenswerthen Unterschiede. Unter den normalen ist 2 Mal körniger bezw. krümeliger, 2 Mal feinflockiger, fadenziehender, 5 Mal schleimiger, fadenziehender Bodensatz notirt, 1 Mal fehlt die genauere Bezeichnung; unter den pathologischen Fällen 5 Mal körniger bezw. krümeliger, 1 Mal feinkörniger und fadenziehender, 1 Mal feinflockiger, 3 Mal fadenziehender schleimiger. Die Menge desselben war zumeist ziemlich gering.

Das mikroskopische Bild lässt ebenfalls keine Differenzen hervortreten. Grösstentheils begegnet man Ketten mittlerer Länge neben bald mehr, bald weniger reichlichen kurzen; sehr lange, über ein und mehrere Gesichtsfelder hinziehende sind in den Reinculturen seltener, ausnahmsweise bestehen dieselben nur aus solchen.

Auch das Wachsthum auf Glycerinagar bietet keine deutlichen Unterschiede dar. Meistens sind die Colonieen sehr klein und fein, punktförmig und von blassem, durchsichtigem Aussehen, gelegentlich aber, zumal wenn die Aussaat spärlich war, vergrössern sie sich bis zu Stecknadelkopfgrösse und werden etwas opaker.

Auf sterilisirten Kartoffelscheiben wurden von normalen Fällen 5 Mal Culturversuche angestellt, davon 4 mit positivem Ergebnisse, von den pathologischen 7 Mal mit 5 Erfolgen. Es waren meist mit dem unbewaffneten Auge eben sichtbare blassweissliche Rasen gewachsen, mikroskopisch bestanden dieselben zum grossen Theile aus Involutionsformen von Streptokokken, worauf ich noch in einer Anmerkung am Schluss dieser Arbeit zurückkomme.

Die Virulenzprüfung ergab, dass von den normalen am 1. bis 5. Tage (inclusive) 4 Streptokokkenstämme die weissen Mäuse tödteten (darunter

ein Fall, bei welchem die ca. 3 Wochen später zum 2. Male aus der Mundhöhle isolirten Streptokokken dieselbe Virulenz aufwiesen), am 6. bis 10. Tage 3, später 3 (am 18., 23., 37. Tage je 1); von den pathologischen tödteten am 1. bis 5. Tage 4, am 6. bis 10. Tage 1, später 4 (am 15., 18., 37., 56. Tage); eine Maus blieb am Leben. Also auch hier kein nennenswerther Unterschied, höchstens eine etwas grössere Virulenz bei den von gesunden Tonsillen gezüchteten Mikroorganismen!

Ich füge hinzu, dass gelegentlich der Untersuchung der 50 Schulkinder von 7 Fällen Virulenzbestimmungen der Streptokokken in derselben Weise ausgeführt wurden, wie die obigen; die Resultate derselben sind in Tabelle II verzeichnet. 2 Mal starben die Mäuse am 1. Tage, 1 Mal am 5., 1 Mal am 42., 3 blieben am Leben. Also auch diese Versuche beweisen, dass die von den normalen Tonsillen gewonnenen Streptokokken in einzelnen Fällen eine recht erhebliche Virulenz besassen.

Alles in Allem folgt aus diesen Untersuchungen, dass die von normalen und von entzündeten Tonsillen gezüchteten Streptokokken weder in der Beschaffenheit der Culturen, noch bezüglich ihrer Virulenz Unterschiede aufweisen, welche eine Trennung derselben in verschiedene Arten rechtfertigen. Wir sind also zu dem Schlusse gezwungen, dass sie zu derselben Gattung gehören, dass sie identisch sind.

Es erübrigt nun noch die Erörterung der Frage, ob die Streptokokken, welche bei Mandelentzündungen in dem Tonsillarschleim, bezw. in den Belägen gefunden werden, als die Erreger dieser Krankheiten anzusehen sind. Während man früher allgemein Erkältungseinflüsse für die Entstehung der Anginen verantwortlich machte, besteht zu unserer Zeit, wo das Gebiet der Infectionskrankheiten durch die glänzenden Entdeckungen der Bakteriologie von Tag zu Tag an Ausdehnung gewinnt, die Neigung, auch die acuten Mandelentzündungen in ihr Bereich zu beziehen. Manche gewichtige Gründe sprechen zu Gunsten dieser Annahme, so das häufige Vorkommen acuter Anginen als Theilerscheinung gewisser ansteckender Krankheiten, besonders aber die über jeden Zweifel erhabenen Beobachtungen von Uebertragung acuter Mandelentzündungen auf mehrere Glieder desselben Hausstandes (sog. Hausepidemieen), und das gelegentliche epidemische Auftreten derselben, wovon Sallard[1] und Dörnberger[2] in ihren ausführlichen Arbeiten mehrere Beispiele aufgezeichnet haben. Die Entdeckung pathogener Bakterien in den Ausschwitzungen der erkrankten Organe

[1] Les amygdalites aigues. *Thèse.* Paris 1892.
[2] A. a. O.



diente dieser Anschauung scheinbar zur Stütze und verleitete nur zu leicht dazu, die gefundenen Mikroorganismen als die Erreger der Krankheit anzusehen. Allerdings differiren die Ansichten der einzelnen Forscher in dieser Hinsicht ziemlich beträchtlich.

So hält Kurth, welcher bei der Untersuchung von 5 Anginen regelmässig Streptokokken, 4 Mal von sehr geringer, 1 Mal von etwas stärkerer Virulenz fand, es nicht für gerechtfertigt, dieselben als die Ursache anzusprechen, weil sie auch in einem geringen Procentsatz in der normalen Mundhöhle gefunden seien. Sendtner[1] dagegen, welcher sie aus den eitrigen Pfröpfen von 4 Erkrankungen an Angina lacunaris in Reincultur züchtete, hält sie für die Erreger derselben und giebt nur insofern einigem Zweifel Raum, als er weiteren Untersuchungen die Entscheidung vorbehält, ob der Streptococcus pyogenes der ausschliessliche Erreger der Angina follicularis ist. Sehr vorsichtig spricht Sallard sich über diesen Punkt aus, obgleich er bei zwei Anginen einen ähnlichen Befund erhoben hatte; er hält die Frage zur Zeit noch nicht für spruchreif. Auch Dörnberger mahnt bezüglich der ätiologischen Verwerthung der Streptokokken zur Vorsicht, da dieselben nicht nur den kranken, sondern auch den gesunden Rachen bewohnen und in beiden Fällen eine gewisse Virulenz besitzen. Er fasst sein Urtheil in folgenden Worten zusammen: „Die Angina lacunaris wird man erst dann als ausschliessliche Streptokokken-Erkrankung bezeichnen dürfen, wenn es gelungen sein wird, diese Bakterien als alleinige Infectionserreger nachzuweisen, mit ihnen ähnliche oder gleiche Krankheitsbilder stets und mit Sicherheit hervorzurufen und die Annahme eines anderen Virus völlig auszuschalten. Ebenso wie die Erreger könnten die Kettenkokken auch Begleiter der Affection sein, welche, nachdem sie, unbekannt vorher, schon im normalen Munde vorhanden gewesen, durch den pathologischen Zustand günstigeren Nährboden zur Vermehrung gefunden haben.“

Einen entgegengesetzten Standpunkt nimmt Veillon ein. Er hält, wie schon vorhin erwähnt, die im normalen Munde und die bei Anginen vorkommenden Streptokokken für durchaus verschieden, ersterer (streptocoque de la salive) entspricht dem Streptococcus brevis, letzterer ist identisch mit dem Streptococcus pyogenes. Da er den Streptoc. pyogenes bei 24 Anginen stets gefunden hat, sieht er in ihm den Erreger derselben, welchem sich gelegentlich Pneumokokken oder Staphylokokken hinzugesellen können. Er giebt die Möglichkeit zu, dass manche Mandelentzündungen auch durch Pneumokokken oder andere Mikroben allein

[1] Zur Aetiologie der Angina follicularis. *Münchener med. Wochenschrift.* 1891. Nr. 26.



verursacht sein können; da er aber selbst unter seinen 24 Fällen keinen derartigen angetroffen hat, ist er der Ansicht, dass das jedenfalls sehr seltene Ereignisse seien.

Chaillou und Martin[1] unterscheiden nach dem bakteriologischen Befunde fünf verschiedene Formen von Mandelentzündungen, die Angines à coccus, à pneumocoques, à staphylocoques, à bacilles coliformes und à streptocoques, und bemühen sich, für jede derselben ein besonderes Krankheitsbild zu construiren. Das Vorgehen dieser Forscher hat vielseitig Anklang gefunden; das gleiche Princip ist auch von Roux und seinen Schülern für die Eintheilung der Diphtherieen in Anwendung gezogen.

Um die bei dem gewöhnlichen Entnahmeverfahren unvermeidliche Verunreinigung des von den Mandeln abgehobenen Schleimes mit Speichel auszuschliessen, cauterisirte Lemoine[2] eine kleine Stelle auf der Tonsille und stiess durch den so entstandenen Schorf eine Capillarpipette ein. Er gewann hierdurch ein kleines Quantum weisslichen, bisweilen mit Blut untermischten Saftes, in welchem er bei 144 Anginen regelmässig Streptokokken, und zwar 128 Mal allein, 11 Mal mit Staphylokokken, 5 Mal mit Colibacillen associirt fand. Er glaubt deshalb die Anginen mit demselben Rechte zu den Streptokokkenkrankheiten zählen zu dürfen, wie das Erysipel und das Puerperalfieber.

Stooss[3] macht ebenfalls die im Rachen gefundenen Mikroorganismen für die Entstehung der Anginen verantwortlich, welche er dementsprechend in der Mehrzahl der Fälle als Autoinfectionen mit den im Munde saprophytisch wuchernden Bakterien ansieht. Er stellt 10 Gruppen von Anginen mit verschiedenem bakteriologischen Befunde auf (wenn ich die Diphtherieen und Tonsillarabscesse abrechne) und führt für jede derselben besondere klinische Merkmale an. In der ersten Gruppe, Anginen mit Streptokokken, befinden sich unter Anderen 5 Scharlachfälle, und steht Stooss deshalb nicht an, den Streptococcus für den Erreger der Scharlachangina zu erklären. Bezüglich der Frage, ob von vornherein eine polymikrobische Infection vorliegt oder nur ein einziger Krankheitserreger verantwortlich zu machen ist, hält Stooss beides für möglich, glaubt aber, dass auch in den Fällen von ursprünglicher Monoinfection sehr rasch weitere Mikroben

[1] Étude clinique et bactériologique sur la diphtérie. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1894. T. VIII.

[2] Contribution à l'étude bactériologique des angines non-diphtériques. *Ebenda.* 1895. T. IX.

[3] Zur Aetiologie und Pathologie der Anginen, der Stomatitis aphthosa und des Soors. *Mittheilungen aus Kliniken und medicin. Instituten der Schweiz.* Basel und Leipzig 1895.



Die normalen Fälle stammen von Patienten der medicinischen Poliklinik und sind unter den 50 Fällen der Tabelle I mit enthalten, die pathologischen rühren von dem Institute eingelieferten Proben her (nicht identisch mit den oben angeführten 10). Unter den letzteren befanden sich 2 Diphtherien, 2 Scharlachanginen, 4 Anginae lacunares, eine nicht diphtheritische Angina mit Belag und eine einfache Angina. Die bei den normalen erlangten Resultate sind in Tabelle III, die der pathologischen in Tabelle IV niedergelegt.

Wenn wir zunächst Aussehen und Beschaffenheit der Bouillonculturen vergleichen, so finden wir bei den von normalen Tonsillen herrührenden Streptokokken die frischen, 24stündigen Culturen 4 Mal klar oder fast klar, 5 Mal mehr oder weniger getrübt, 1 Mal keine nähere Angabe; bei den pathologischen 3 Mal klar oder fast klar, 7 Mal leicht getrübt. Nach mehrtägigem Stehen bei Zimmertemperatur klärten sämmtliche Bouillonröhrchen sich fast vollständig auf. Die Form des Bodensatzes, auf welche bekanntlich Kurth ein besonderes Gewicht legt, zeigt auch keine bemerkenswerthen Unterschiede. Unter den normalen ist 2 Mal körniger bezw. krümeliger, 2 Mal feinflockiger, fadenziehender, 5 Mal schleimiger. fadenziehender Bodensatz notirt, 1 Mal fehlt die genauere Bezeichnug: unter den pathologischen Fällen 5 Mal körniger bezw. krümeliger, 1 Mal feinkörniger und fadenziehender, 1 Mal feinflockiger, 3 Mal fadenziehender schleimiger. Die Menge desselben war zumeist ziemlich gering.

Das mikroskopische Bild lässt ebenfalls keine Differenzen hervortreten. Grösstentheils begegnet man Ketten mittlerer Länge neben bald mehr, bald weniger reichlichen kurzen; sehr lange, über ein und mehrere Gesichtsfelder hinziehende sind in den Reinculturen seltener, ausnahmsweise bestehen dieselben nur aus solchen.

Auch das Wachsthum auf Glycerinagar bietet keine deutlichen Unterschiede dar. Meistens sind die Colonieen sehr klein und fein, punktförmig und von blassem, durchsichtigem Aussehen, gelegentlich aber, zumal wenn die Aussaat spärlich war, vergrössern sie sich bis zu Stecknadelkopfgrösse und werden etwas opaker.

Auf sterilisirten Kartoffelscheiben wurden von normalen Fällen 5 Mal Culturversuche angestellt, davon 4 mit positivem Ergebnisse, von den pathologischen 7 Mal mit 5 Erfolgen. Es waren meist mit dem unbewaffneten Auge eben sichtbare blassweissliche Rasen gewachsen, mikroskopisch bestanden dieselben zum grossen Theile aus Involutionsformen von Streptokokken, worauf ich noch in einer Anmerkung am Schluss dieser Arbeit zurückkomme.

Die Virulenzprüfung ergab, dass von den normalen am 1. bis 5. Tage (inclusive) 4 Streptokokkenstämme die weissen Mäuse tödteten (darunter



ein Fall, bei welchem die ca. 3 Wochen später zum 2. Male aus der Mundhöhle isolirten Streptokokken dieselbe Virulenz aufwiesen), am 6. bis 10. Tage 3, später 3 (am 18., 23., 37. Tage je 1); von den pathologischen tödteten am 1. bis 5. Tage 4, am 6. bis 10. Tage 1, später 4 (am 15., 18., 37., 56. Tage); eine Maus blieb am Leben. Also auch hier kein nennenswerther Unterschied, höchstens eine etwas grössere Virulenz bei den von gesunden Tonsillen gezüchteten Mikroorganismen!

Ich füge hinzu, dass gelegentlich der Untersuchung der 50 Schulkinder von 7 Fällen Virulenzbestimmungen der Streptokokken in derselben Weise ausgeführt wurden, wie die obigen; die Resultate derselben sind in Tabelle II verzeichnet. 2 Mal starben die Mäuse am 1. Tage, 1 Mal am 5., 1 Mal am 42., 3 blieben am Leben. Also auch diese Versuche beweisen, dass die von den normalen Tonsillen gewonnenen Streptokokken in einzelnen Fällen eine recht erhebliche Virulenz besassen.

Alles in Allem folgt aus diesen Untersuchungen, dass die von normalen und von entzündeten Tonsillen gezüchteten Streptokokken weder in der Beschaffenheit der Culturen, noch bezüglich ihrer Virulenz Unterschiede aufweisen, welche eine Trennung derselben in verschiedene Arten rechtfertigen. Wir sind also zu dem Schlusse gezwungen, dass sie zu derselben Gattung gehören, dass sie identisch sind.

Es erübrigt nun noch die Erörterung der Frage, ob die Streptokokken, welche bei Mandelentzündungen in dem Tonsillarschleim, bezw. in den Belägen gefunden werden, als die Erreger dieser Krankheiten anzusehen sind. Während man früher allgemein Erkältungseinflüsse für die Entstehung der Anginen verantwortlich machte, besteht zu unserer Zeit, wo das Gebiet der Infectionskrankheiten durch die glänzenden Entdeckungen der Bakteriologie von Tag zu Tag an Ausdehnung gewinnt, die Neigung, auch die acuten Mandelentzündungen in ihr Bereich zu beziehen. Manche gewichtige Gründe sprechen zu Gunsten dieser Annahme, so das häufige Vorkommen acuter Anginen als Theilerscheinung gewisser ansteckender Krankheiten, besonders aber die über jeden Zweifel erhabenen Beobachtungen von Uebertragung acuter Mandelentzündungen auf mehrere Glieder desselben Hausstandes (sog. Hausepidemieen), und das gelegentliche epidemische Auftreten derselben, wovon Sallard[1] und Dörnberger[2] in ihren ausführlichen Arbeiten mehrere Beispiele aufgezeichnet haben. Die Entdeckung pathogener Bakterien in den Ausschwitzungen der erkrankten Organe

[1] Les amygdalites aigues. *Thèse.* Paris 1892.

[2] A. a. O.



diente dieser Anschauung scheinbar zur Stütze und verleitete nur zu leicht dazu, die gefundenen Mikroorganismen als die Erreger der Krankheit anzusehen. Allerdings differiren die Ansichten der einzelnen Forscher in dieser Hinsicht ziemlich beträchtlich.

So hält Kurth, welcher bei der Untersuchung von 5 Anginen regelmässig Streptokokken, 4 Mal von sehr geringer, 1 Mal von etwas stärkerer Virulenz fand, es nicht für gerechtfertigt, dieselben als die Ursache anzusprechen, weil sie auch in einem geringen Procentsatz in der normalen Mundhöhle gefunden seien. Sendtner[1] dagegen, welcher sie aus den eitrigen Pfröpfen von 4 Erkrankungen an Angina lacunaris in Reincultur züchtete, hält sie für die Erreger derselben und giebt nur insofern einigem Zweifel Raum, als er weiteren Untersuchungen die Entscheidung vorbehält, ob der Streptococcus pyogenes der ausschliessliche Erreger der Angina follicularis ist. Sehr vorsichtig spricht Sallard sich über diesen Punkt aus, obgleich er bei zwei Anginen einen ähnlichen Befund erhoben hatte; er hält die Frage zur Zeit noch nicht für spruchreif. Auch Dörnberger mahnt bezüglich der ätiologischen Verwerthung der Streptokokken zur Vorsicht, da dieselben nicht nur den kranken, sondern auch den gesunden Rachen bewohnen und in beiden Fällen eine gewisse Virulenz besitzen. Er fasst sein Urtheil in folgenden Worten zusammen: „Die Angina lacunaris wird man erst dann als ausschliessliche Streptokokken-Erkrankung bezeichnen dürfen, wenn es gelungen sein wird, diese Bakterien als alleinige Infectionserreger nachzuweisen, mit ihnen ähnliche oder gleiche Krankheitsbilder stets und mit Sicherheit hervorzurufen und die Annahme eines anderen Virus völlig auszuschalten. Ebenso wie die Erreger könnten die Kettenkokken auch Begleiter der Affection sein, welche, nachdem sie, unbekannt vorher, schon im normalen Munde vorhanden gewesen, durch den pathologischen Zustand günstigeren Nährboden zur Vermehrung gefunden haben."

Einen entgegengesetzten Standpunkt nimmt Veillon ein. Er hält, wie schon vorhin erwähnt, die im normalen Munde und die bei Anginen vorkommenden Streptokokken für durchaus verschieden, ersterer (streptocoque de la salive) entspricht dem Streptococcus brevis, letzterer ist identisch mit dem Streptococcus pyogenes. Da er den Streptoc. pyogenes bei 24 Anginen stets gefunden hat, sieht er in ihm den Erreger derselben, welchem sich gelegentlich Pneumokokken oder Staphylokokken hinzugesellen können. Er giebt die Möglichkeit zu, dass manche Mandelentzündungen auch durch Pneumokokken oder andere Mikroben allein

[1] Zur Aetiologie der Angina follicularis. *Münchener med. Wochenschrift.* 1891. Nr. 26.



verursacht sein können; da er aber selbst unter seinen 24 Fällen keinen derartigen angetroffen hat, ist er der Ansicht, dass das jedenfalls sehr seltene Ereignisse seien.

Chaillou und Martin[1] unterscheiden nach dem bakteriologischen Befunde fünf verschiedene Formen von Mandelentzündungen, die Angines à coccus, à pneumocoques, à staphylocoques, à bacilles coliformes und à streptocoques, und bemühen sich, für jede derselben ein besonderes Krankheitsbild zu construiren. Das Vorgehen dieser Forscher hat vielseitig Anklang gefunden; das gleiche Princip ist auch von Roux und seinen Schülern für die Eintheilung der Diphtherieen in Anwendung gezogen.

Um die bei dem gewöhnlichen Entnahmeverfahren unvermeidliche Verunreinigung des von den Mandeln abgehobenen Schleimes mit Speichel auszuschliessen, cauterisirte Lemoine[2] eine kleine Stelle auf der Tonsille und stiess durch den so entstandenen Schorf eine Capillarpipette ein. Er gewann hierdurch ein kleines Quantum weisslichen, bisweilen mit Blut untermischten Saftes, in welchem er bei 144 Anginen regelmässig Streptokokken, und zwar 128 Mal allein, 11 Mal mit Staphylokokken, 5 Mal mit Colibacillen associirt fand. Er glaubt deshalb die Anginen mit demselben Rechte zu den Streptokokkenkrankheiten zählen zu dürfen, wie das Erysipel und das Puerperalfieber.

Stooss[3] macht ebenfalls die im Rachen gefundenen Mikroorganismen für die Entstehung der Anginen verantwortlich, welche er dementsprechend in der Mehrzahl der Fälle als Autoinfectionen mit den im Munde saprophytisch wuchernden Bakterien ansieht. Er stellt 10 Gruppen von Anginen mit verschiedenem bakteriologischen Befunde auf (wenn ich die Diphtherieen und Tonsillarabscesse abrechne) und führt für jede derselben besondere klinische Merkmale an. In der ersten Gruppe, Anginen mit Streptokokken, befinden sich unter Anderen 5 Scharlachfälle, und steht Stooss deshalb nicht an, den Streptococcus für den Erreger der Scharlachangina zu erklären. Bezüglich der Frage, ob von vornherein eine polymikrobische Infection vorliegt oder nur ein einziger Krankheitserreger verantwortlich zu machen ist, hält Stooss beides für möglich, glaubt aber, dass auch in den Fällen von ursprünglicher Monoinfection sehr rasch weitere Mikroben

[1] Étude clinique et bactériologique sur la diphtérie. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1894. T. VIII.

[2] Contribution à l'étude bactériologique des angines non-diphtériques. *Ebenda.* 1895. T. IX.

[3] Zur Aetiologie und Pathologie der Anginen, der Stomatitis aphthosa und des Soors. *Mittheilungen aus Kliniken und medicin. Instituten der Schweiz.* Basel und Leipzig 1895.



der Mundhöhle hinzutreten und mehr oder weniger den Gang der Erkrankung beeinflussen. Als sicher protopathische Krankheitserreger sieht er nur die Streptokokken, Staphylokokken und Pneumokokken an, als unsichere den Friedländer'schen Bacillus und den Micrococcus tetragenus, für unbestimmt, bezw. unwahrscheinlich den Coccus conglomeratus und Leptothrix. Ein praktisch brauchbares Eintheilungsprincip lässt sich jedoch auf Grund der bakteriologischen Untersuchung nicht aufstellen, wir sind demnach auf das klinische Bild angewiesen, wonach 1. einfach katarrhalische, 2. folliculäre, 3. pseudomembranöse Anginen unterschieden werden.

Widal und Bezançon haben in mehreren Arbeiten die Eintheilung der Mandelentzündungen nach dem Charakter der sie begleitenden Mikroorganismen für unzulässig erklärt. In der Sitzung der Société médicale des Hopitaux vom 13. März 1896[1] wenden sie sich in einem „Des angines dites à streptocoques" betitelten Vortrage gegen die ätiologische Bedeutung der letzteren. An 122 Proben studirten sie die morphologischen und biologischen Eigenschaften der Streptokokken und constatirten, dass alle angegebenen Unterscheidungsmerkmale zwischen den Kettenkokken verschiedener Provenienz trügerisch sind. Da ferner dieselben regelmässig auf gesunden und kranken Tonsillen vorhanden sind, kann ihre Auffindung bei der bakteriologischen Untersuchung der Mandelbeläge kein diagnostisches Merkzeichen abgeben. Auch die Virulenzprüfung liefert hierzu keine genügenden Anhaltspunkte, weil die pathogenen Eigenschaften der von kranken Tonsillen gezüchteten Streptokokken nicht constant genug sind, um eine sichere Unterscheidung zu gestatten. Sie schliessen mit folgendem Satze: „Les angines aigues non diphthériques doivent donc continuer à être classées, abstraction faite des résultats bactériologiques, d'après eur étiologie générale, leur aspect local et leur évolution clinique."

Wenn wir nun den Versuch machen wollen, auf Grund obiger Darlegungen und eigenen Versuche und mit Berücksichtigung der klinischen Erfahrungen ein Urtheil über die Aetiologie der acuten Mandelentzündungen zu fällen, so ist es meines Erachtens in erster Linie geboten, zwei Gruppen streng von einander zu scheiden: 1. die im Gefolge acuter Infectionskrankheiten auftretenden, und 2. die ein selbstständiges Leiden darstellenden Mandelentzündungen.

Die ersten sind entweder das hauptsächlichste Symptom einer ansteckenden Krankheit, wie bei Diphtherie, oder sie gehören zu den Initialerscheinungen einer solchen, wie die Anginen bei Masern, Scharlach, Influenza, Gelenkrheumatismus, Syphilis u. A.; alle diese sind mithin auch

[1] *La semaine médicale.* 1896. p. 116. Vergl. auch die Abhandlung Widal's „Streptococcie" in *Traité de Médecine* v. Brouardel, Gilbert u. Girode. Paris 1895.



durch das die Grundkrankheit bedingende specifische Gift veranlasst, welches wahrscheinlich in zahlreichen Fällen die Tonsillen als Eintrittspforte in den Körper benutzt. Es ist demnach nicht statthaft, für die bei den genannten Infectionskrankheiten auftretenden Anginen, mögen sie unter noch so verschiedenen Bildern erscheinen, mögen sie in den einzelnen Fällen noch so grosse Differenzen bezüglich des Verlaufes darbieten, andere Mikroben als die specifischen Erreger verantwortlich zu machen. Deshalb muss ich auch Stooss widersprechen, wenn er die Streptokokken als Ursache der Scharlachanginen erklärt; denn das Contagium des Scharlachs ist uns zwar leider noch völlig unbekannt, jedenfalls aber berechtigt nichts zu der Hypothese, den Streptokokken eine ätiologische Rolle beim Scharlach zuzuertheilen. Damit ist natürlich nicht ausgeschlossen, dass der Verlauf der Mandelentzündungen im einzelnen Falle secundär durch die bei jeder entzündlichen Affection des Rachens üppig wuchernden Mundbakterien beeinflusst wird, und dass eventuell folgenschwere Complicationen durch das secundäre Hinzutreten derselben entstehen. Als Beispiel hierfür verweise ich auf meinen auf dem 16. Congress für innere Medicin zu Wiesbaden gehaltenen Vortrag,[1] in welchem ich bestrebt gewesen bin, den Einfluss, welchen die Streptokokken auf den Ablauf einer diphtherischen Rachenaffection haben können, darzulegen. —

Die klinische Betrachtung der primären Mandelentzündungen lehrt, dass dieselben in ätiologischer Hinsicht in zwei Unterabtheilungen zu sondern sind. Für die erste ist die Ursache in physikalischen und ähnlichen Einflüssen, besonders in sogen. Erkältungen zu suchen, für die zweite muss die Uebertragung von anderen erkrankten Individuen, die Infection, zugegeben werden.

Dass Erkältungen Anginen erzeugen, ist durch tausendfältige Erfahrungen sichergestellt und hat wohl Jeder in jüngeren Jahren am eigenen Leibe erfahren; dass aber auch durch Ansteckung Mandelentzündungen erworben werden können, ist gleichfalls durch zahlreiche einwandsfreie klinische Beobachtungen erwiesen. Der klinische Symptomencomplex kann bei beiden Arten in den Einzelfällen erhebliche Differenzen aufweisen, der infectiöse Ursprung scheint allerdings besonders häufig bei der Angina lacunaris s. follicularis beobachtet zu sein.

Für die infectiösen Formen muss man jedenfalls die Existenz eines specifischen Krankheitserregers supponiren, die anderen werden heut zu Tage von vielen Forschern als Autoinfectionen mit den pathogenen Mundbakterien angesehen, wobei die Erkältung als auslösendes Moment den Anstoss giebt.

[1] Die Rolle der Streptokokken bei der Diphtherie. *Verhandlungen d. XVI. Congresses für innere Medicin zu Wiesbaden.* 1898.



Es harrt somit die Frage der Entscheidung, sind die in dem Schleim. bezw. in den Belägen gefundenen pathogenen Bakterien die gesuchten specifischen Erreger der durch Ansteckung verbreitbaren acuten Anginen oder nicht?

Künstliche Uebertragungsversuche haben, soweit mir bekannt, bisher theils ein völlig negatives, theils wenigstens kein einwandsfreies positives Resultat ergeben. Es bleibt also nur die Thatsache übrig, dass die beschuldigten Bakterien, in Sonderheit die Streptokokken, in den Ausscheidungen der erkrankten Organe in grosser Anzahl vorhanden sind. Wie die Litteraturübersicht ergiebt, ist dies Factum von den einzelnen Autoren in verschiedenem Sinne verwerthet, je nachdem sie die Mikroben als häufige oder seltene Gäste der normalen Mundhöhle ansahen. Nun habe ich für die am meisten belasteten Streptokokken den Nachweis erbracht, dass sie regelmässig auf den Tonsillen sich finden, und dass sie in ihren culturellen und pathogenen Eigenschaften keine Unterschiede von den bei Angina gezüchteten aufweisen. Dies muss doch zum mindesten stutzig machen, es muss uns die Ueberzeugung aufdrängen, dass der Nachweis ihrer ätiologischen Bedeutung noch nicht erbracht ist und zunächst nichts auch nur mit einiger Wahrscheinlichkeit dafür spricht. Man könnte hier einwenden, dass auch die Erreger anderer specifischer Infectionskrankheiten, welche allgemeine Anerkennung geniessen, bei Gesunden gefunden werden, wie z. B. die der Diphtherie. Verweilen wir bei diesem Beispiel einen Augenblick, die genaue Erwägung der einschlägigen Verhältnisse kann vielleicht klärend auf die vorliegende Frage wirken.

Löffler hat bekanntlich selbst in seiner ersten grundlegenden Diphtherie-Arbeit erwähnt, dass er Diphtheriebacillen von den Mandeln eines Gesunden erhalten hat, und diese Beobachtung veranlasste ihn, äusserst vorsichtig in seinen Schlüssen zu sein. Der gleiche Befund ist später wiederholt erhoben worden. Allerdings ist hierhin meines Erachtens nicht die folgende Angabe von Roux und Yersin[1] zu rechnen. Die genannten Forscher untersuchten 59 Schulkinder eines in gesunder Lage am Meere gelegenen Städtchens, wo seit lange keine Diphtherie geherrscht hatte, und fanden bei 26 Schülern Pseudodiphtheriebacillen im Rachen; sie bezeichnen deshalb den Pseudodiphtheriebacillus als einen hôte fréquent de la bouche. In einem Referate des Virchow-Hirsch'schen Jahresberichtes (1892. Bd. I. S. 546) über eine Arbeit von Vallin ist diese Angabe als Beweis für das Vorkommen von Diphtheriebacillen bei Gesunden verwerthet worden,

[1] Contribution à l'étude de la diphtérie III Mémoire. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1890. T. IV.



wie mir scheint mit Unrecht; denn wenn auch Roux und Yersin, wie sie am Schlusse der citirten Arbeit ausführen, geneigt sind, Pseudodiphtheriebacillen und Diphtheriebacillen für identisch zu halten, so geben sie doch zu, dass ein sicherer Beweis dafür noch aussteht, und da sie in dem Berichte über die obige Untersuchung ausdrücklich von Pseudodiphtheriebacillen sprechen, hat Niemand ein Recht, hierin willkürlich eine Aenderung eintreten zu lassen. Ich selbst halte, wie ich an anderem Orte ausgeführt habe, mit Löffler u. A. beide Bakterien für durchaus verschieden und ihre Aehnlichkeit für eine rein äusserliche.

Weitere Mittheilungen über das Vorkommen von Diphtheriebacillen im Munde Gesunder sind von Gross[1] gemacht. Er untersuchte 314 nicht diphtherische Kranke des Bostoner Kinderspitals und fand bei 24 = 7·9 Proc. Diphtheriebacillen. Müller[2] constatirte unter 92 in die Mädchenabtheilung der Berliner Kinderklinik Aufgenommenen bei 5 zur Zeit des Eintrittes zum Theil vollvirulente Löffler'sche Bacillen, ohne dass die Kinder vorher an Diphtherie erkrankt oder mit Kranken in Berührung gekommen waren.

Aaser[3] untersuchte 89 Insassen einer Kaserne, in welcher eine Diphtherieepidemie ausgebrochen war, wobei 17 virulente Löffler'sche Bacillen auf den Tonsillen hatten. Fibiger[4] fand bei der Untersuchung sämmtlicher 134 Zöglinge und Angestellten einer Schule, in welcher ebenfalls eine Epidemie herrschte, 8 Mal sichere Diphtheriebacillen. Allerdings erkrankten in den beiden letzterwähnten Fällen später einige der bacillenführenden Personen oder gaben zu Uebertragung der Krankheit Anlass, so dass jene Beobachtungen hier nicht ohne Einschränkung zu benutzen sind.

Um ein eigenes Urtheil zu gewinnen, haben Hr. College Babucke und ich in dem Tonsillarschleim der 50 Schülerinnen einer hiesigen Bürgerschule, welche ich auf Streptokokken untersuchte (vgl. oben), gleichzeitig auf die Anwesenheit von Diphtheriebacillen gefahndet. Die Untersuchung erfolgte in der gleichen Weise, wie sie sich für die Prüfung diphtherieverdächtigen Materiales im hiesigen Institute bestens bewährt hat. Der mit sterilen Wattetupfern von den Mandeln abgewischte Schleim wurde auf je einem mit sterilisirtem Löffler'schen Blutserum gefüllten Petri'-

[1] The Klebs-Löffler bacillus in appearently normal throats and noses. *Univ. med. Mag.* IX, 1. Referat in Schmidt's *Jahrbüchern.* Bd. 253. 1897. S. 34.

[2] Untersuchungen über das Vorkommen von Diphtheriebacillen in der Mundhöhle von nicht diphtherischen Kindern innerhalb eines grossen Krankensaales. *Jahrbuch für Kinderheilkunde.* Neue Folge. 1896. Bd. XLIII.

[3] Zur Frage der Bedeutung des Auftretens der Löffler'schen Diphtheriebacillen bei scheinbar gesunden Menschen. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1895. Nr. 22.

[4] Ueber die Bekämpfung der Diphtherieepidemieen durch Isolation der Individuen mit Diphtheriebacillen im Schlunde. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1897.



schen Schälchen verstrichen, 24 Stunden bei 37° gehalten und sodann bis zu Beendigung der Untersuchung im Eisschranke aufbewahrt. Letzteres hatte den Zweck, das Ueberwuchern der Kokken zu verhindern, und erwies sich als sehr vortheilhaft. Um ganz sicher zu sein, dass uns keine verdächtigen Colonieen entgehen könnten, gingen wir in der Art vor, dass zuerst Hr. College Babucke von sämmtlichen Schälchen Deckglaspräparate anfertigte, alsdann ich nochmals unabhängig von ihm und ohne Kenntniss seiner Ergebnisse. Ich bemerke noch, dass Hr. Dr. Babucke seit $1^1/_2$ Jahren Diphtherieassistent am Institute ist, also eine grosse Uebung in Untersuchungen der Art hat, ich selbst eine Zeit lang dieselbe Stellung bekleidete, ausserdem seit ca. 4 Jahren mich mit Diphtherie bakteriologisch beschäftigt habe; es ist somit die denkbar grösste Sicherheit gegeben, dass uns keine Diphtheriecolonieen entgangen sind. Wir haben ferner nicht nur in allen Fällen, wo verdächtige Culturen vorhanden waren, sondern auch überall, wo wir zweifellose Pseudodiphtheriebacillen antrafen, den Thierversuch angestellt (Meerschweinchen subcutan am Abdomen geimpft). Die Resultate sind in der letzten Rubrik der Tabelle II niedergelegt.

Unter den 50 Fällen fanden wir 5 Mal verdächtige Stäbchen, 5 Mal Pseudodiphtheriebacillen, 1 Mal Involutionsformen von Streptokokken, welche eine gewisse Aehnlichkeit mit Diphtheriebacillen darboten. Die von allen diesen 11 Fällen ausgeführten Thierimpfungen ergaben ein absolut negatives Resultat. Es waren mithin bei 50 gesunden Kindern, welche sämmtlich lange und zum Theil recht virulente Streptokokken auf ihren normalen Tonsillen beherbergten, kein Mal echte Löffler'sche Bacillen vorhanden, — immerhin ein Beweis, dass Diphtheriebacillen doch nicht so häufig in der Mundhöhle Gesunder vorkommen, wie man gegenwärtig vielfach anzunehmen geneigt ist. —

Wenn wir diese Beobachtung für die vorliegende Frage verwerthen, dürfen wir ferner nicht ausser Acht lassen, dass die ätiologische Bedeutung der Löffler'schen Bacillen ausser durch die constante Anwesenheit in den Belägen durch viele andere Momente, wie die Möglichkeit, eine der menschlichen Diphtherie entsprechende Krankheit experimentell zu erzeugen u. s. w., bewiesen ist. Für die Hypothese, dass die Streptokokken die Erreger der Anginen seien, spricht aber ausser ihrem Vorhandensein nichts, und dies Vorhandensein hat nichts zu bedeuten, da es ein constantes Vorkommniss auch bei Gesunden ist. Wir sind somit meiner Ansicht nach zu folgenden Schlüssen berechtigt: Es ist durch nichts bewiesen, dass den Streptokokken eine ätiologische Bedeutung für die infectiösen Mandelentzündungen zukommt, ja es ist nach den vorliegenden Untersuchungen in hohem Grade un-



wahrscheinlich, dass sie die Erreger derselben sind. Das Gleiche gilt wohl auch für die Staphylokokken, Pneumokokken und die anderen hierfür in Anspruch genommenen Bakterien. Wenn diese Mikroorganismen eine Rolle bei den Anginen spielen, so wird dieselbe immer nur secundärer Natur sein, gerade wie die der Streptokokken bei der Diphtherie, indem sie durch ihr Wuchern auf den entzündeten Tonsillen Beläge oder andere locale Veränderungen erzeugen, in den Krypten Eiterungen hervorrufen oder von da aus in die Tiefe dringen und zu schweren Complicationen Anlass geben können.

Zum Schluss seien einige nachträgliche Bemerkungen zur Eintheilung der Streptokokken gestattet. Nachdem die Identität des Streptococcus erysipelatis mit dem Streptococcus pyogenes, für welche namentlich Baumgarten[1] mit überzeugenden Gründen eingetreten ist, jetzt wohl allgemeine Anerkennung errungen hat, sind mehrfach andere Classificirungen der Kettenkokken versucht, welche zum Theil zur Aufstellung sehr complicirter Systeme geführt haben. Der meisten Beachtung erfreut sich gegenwärtig die von Behring und v. Lingelsheim eingeführte Scheidung in Streptococcus longus und brevis, welche sich schon durch ihre Einfachheit besonders empfiehlt. Ausschlag gebend für dieselbe ist die Länge der Ketten in der Bouilloncultur. Streptoc. longus lässt ferner nach v. Lingelsheim die Bouillon klar oder bildet höchstens leichte Wölkchen in den oberen Schichten, wächst auf Kartoffeln gar nicht oder sehr spärlich und ist pathogen für Mäuse, während Streptoc. brevis die Bouillon trübt, auf Kartoffeln bei 1- bis 2tägigem Aufenthalte im Brütschranke grauweisse, confluirende, leicht abziehbare Beläge bildet und keine Virulenz besitzt. Kurth und Behring[2] haben die Beschaffenheit des in Bouillonculturen gebildeten Bodensatzes benutzt, um innerhalb der Gruppe des Streptoc. longus weitere Differenzirungen zu ermöglichen. Veillon's Streptocoque de la salive deckt sich mit dem Streptoc. brevis v. Lingelsheim's, sein Streptoc. pyogenes mit Str. longus; als hauptsächlichstes Unterscheidungsmittel empfiehlt er die Kartoffelcultur.

Gegen die Allgemeingültigkeit dieser Eintheilung lassen sich aber mehrere Einwände erheben. Behring[3] selbst hat dazu den ersten Anstoss gegeben, indem er eines Streptoc. brevis Erwähnung thut, welcher ausgesprochen pathogene Eigenschaften besass.

---

[1] *Lehrbuch der pathologischen Mykologie.* Braunschweig 1890.

[2] Untersuchungsergebnisse, betreffend den Streptococcus longus. *Gesammelte Abhandlungen z. ätiologischen Therapie der ansteckenden Krankheiten.* Leipzig 1893.

[3] A. a. O.



Ich möchte hier in Kürze meine eigenen diesbezüglichen Erfahrungen zusammenstellen. Zunächst habe ich gefunden, dass die Mehrzahl der von mir untersuchten Streptokokken, welche zu der Gruppe longus zu rechnen sind, die Nährbouillon Anfangs bald mehr, bald weniger trübte. Nach mehrtägigem Stehen, zumal bei Zimmertemperatur, klärten sie sich allerdings sämmtlich fast vollkommen. Einen Einfluss der Kettenlänge auf das Klarbleiben oder Trübewerden vermochte ich nicht zu constatiren; so war die Bouilloncultur des Falles 21 der Tabelle II, welche durchweg aus colossal langen Ketten bestand, intensiv getrübt, während die von Fall 7 der Tabelle IV, deren Ketten sich ebenfalls durch ausserordentliche Länge auszeichneten, fast klar blieb.

Auch auf die Virulenz erwies sich die Kettenlänge ohne sicheren Einfluss; von den beiden erwähnten Fällen tödtete der erstere die Maus bei intraperitonealer Injection überhaupt nicht; der zweite erst nach 18 Tagen. Ebenso wenig vermochte ich eine sichere Congruenz zwischen Beschaffenheit des Bodensatzes und Kettenlänge, bezw. Virulenz festzustellen.

Culturen auf Kartoffelscheiben habe ich von 18 Fällen angelegt, mit 9 von normalen und 9 von entzündeten Tonsillen gewonnenen Kettenkokken. 4 Mal fielen dieselben negativ aus, 14 Mal war ein zwar geringes, aber deutliches Wachsthum eingetreten.[1] Unter diesen befinden sich Streptokokken, welche durch hohe Pathogenität ausgezeichnet waren, während umgekehrt bei ausbleibendem Wachsthum auf Kartoffel öfter geringe Virulenz beobachtet wurde. Zum Vergleich impfte ich aus Eiter gezüchtete Streptokokken auf Kartoffelscheiben und erhielt auch von diesen deutlich sichtbare Colonieen. Ich habe ferner festgestellt, dass Streptokokken, welche von Kartoffelculturen auf Bouillon übertragen waren, unter Umständen sich als sehr virulent erwiesen. Gegen die Beweiskraft der-

[1] Bei der mikroskopischen Untersuchung der Kartoffelculturen fiel mir auf, dass sehr häufig reichlich sogen. Involutionsformen gefunden wurden, bei welchen einzelne Glieder der Ketten vergrössert, aufgetrieben, kolbig verdickt und zu unregelmässig gestalteten und unregelmässig sich färbenden, zuweilen stäbchenförmigen Gebilden ausgewachsen waren. Es kann so eine Aehnlichkeit mit Diphtheriebacillen entstehen, worauf auch Babes (*diese Zeitschrift*, 1895, Bd. XX) aufmerksam gemacht hat (vgl. auch Stolz, Ueber besondere Wachsthumsformen bei Pneumokokken und Streptokokken. *Centralblatt für Bakteriologie*, Bd. XXIV, Nr. 9). Aehnliche Bildungen habe ich sonst bei Streptokokken selten angetroffen, einmal auf einer Blutserumplatte, auf welcher mit Diphtheriebacillen in Mischcultur gezüchtete Streptokokken von diesen isolirt wurden, und einmal in einer Reincultur auf Glycerinagar (Tab. IV, Nr. 7), wo sie neben normal ausgebildeten Ketten vorhanden waren. Die Colonieen der letzteren waren klein, fein, durchsichtig und hatten das gewöhnliche Aussehen, die Involutionsformen enthaltenden erreichten fast Stecknadelkopfgrösse und erschienen etwas opak.



artiger Versuche hat Veillon eingewendet, dass Streptoc. brevis und pyogenes zusammen gleichzeitig auf die Kartoffel überimpft sein können, die pathogene Wirkung aber nur den letzteren zuzuschreiben sei, die auf der Kartoffel nicht gewachsen, sondern nur bis zur Uebertragung in die Bouillon nicht abgestorben waren. Er erwähnt eines Falles, wo er selbst eine entsprechende Beobachtung machte und nachträglich beide Sorten aus der Cultur isoliren konnte. Wenn somit zugegeben werden mag, dass dieser Versuch nicht beweisend ist, so dürfte gegen die folgende Beobachtung kein Einwand erhoben werden können. Von Fall 7 der Tabelle III habe ich mit dem Herzblute einer an acuter Streptokokkensepticämie eingegangenen Maus eine Kartoffelscheibe geimpft und auf derselben feine, knopfförmige, weissliche Colonieen wachsen gesehen, welche sich mikroskopisch und durch Weiterzüchtung in Bouillon als Streptokokken erwiesen. — Ich kann somit dem positiven oder negativen Ausfall der Kartoffelcultur gleichfalls eine entscheidende Bedeutung für die Trennung der Kettenkokken in verschiedene Arten nicht zuerkennen.

Die vorstehenden Beobachtungen, welche ich gelegentlich der obigen Arbeit gemacht habe, bestärken mich in der Anschauung, dass die Eintheilung der Streptokokken in longi und brevis und die dafür angegebenen Merkmale noch nicht als endgültige anzusehen sind.[1]

[1] Zu ähnlichen Anschauungen gelangt auch Widal in dem oben citirten Artikel „Streptococcie" in Brouarde, Gilbert u. Girode's *Traité de Médecine.* Paris 1895.



Die Vergleichbarkeit der Sterblichkeitsziffern verschiedener Zeiträume.

Von

Dr. **Fr. Prinzing**
in Ulm.

Die allgemeinen Sterblichkeitsziffern, die durch Berechnung aller Todesfälle auf 1000 Einwohner gewonnen werden, lassen sich nicht ohne Weiteres mit einander vergleichen. Ihre Grösse wird durch die Zahl der Geburten und die Höhe der Säuglingssterblichkeit intensiv beeinflusst. Mit einer Zunahme der Geburten muss nothwendig die allgemeine Sterblichkeit höher erscheinen, auch wenn die Lebensgefährdung keine Steigerung erlitten hat, und umgekehrt. Wenn wir daher diese beiden Factoren, die besonders deshalb die Vergleichung der Sterblichkeitsziffern unmöglich machen, weil sie nach Zeit und Ort ganz erheblichen Schwankungen unterliegen, ausschalten, so erhalten wir Ziffern, die viel eher vergleichbar sind. Dies wird in der Hauptsache erreicht, wenn die Gestorbenen des ersten Lebensjahres ausgeschieden und nur die Uebereinjährigen in Rechnung gezogen werden.

In den Veröffentlichungen des Kaiserl. Gesundheitsamtes über die Bevölkerungsvorgänge in deutschen Orten über 15000 Einwohner ist daher längst die Berechnung der im Alter von einem Jahre und darüber Gestorbenen im Verhältnisse zu 1000 Einwohnern überhaupt durchgeführt. Es handelt sich dabei, streng genommen, nicht um die Sterblichkeit der über ein Jahr alten Personen, wie dies Verhältniss so häufig bezeichnet wird, da diese Ziffer nur dadurch gewonnen werden kann, dass die in dem genannten Alter Gestorbenen zu den gleichalterigen Lebenden, also zu den über ein Jahr alten Personen in Beziehung gesetzt werden. Obige Ziffer müsste man vielmehr als Antheil der Uebereinjährigen an der Sterblichkeitsziffer bezeichnen. Den wirklichen Sterblichkeitscoëffi-

cienten der Uebereinjährigen erhält man so, wie es schon G. v. Mayr[1] 1877 vorgeschlagen hat, dass man von Gestorbenen und Lebenden die des ersten Lebensjahres in Abzug bringt und die beiden so erhaltenen Ziffern auf einander bezieht. Die Unterschiede dieser beiden Ziffern sind allerdings nicht sehr gross und schwanken, je nach der Höhe der Geburtsziffer und Kindersterblichkeit, innerhalb enger Grenzen. So starben 1872 bis 1880 Uebereinjährige:

	Auf 1000 Personen überhaupt	Auf 1000 Uebereinjährige
In Preussen	17·91	18·49
„ Bayern	18·03	18·55
„ Sachsen	16·66	17·20
„ Oesterreich	21·53	22·17
„ Frankreich	18·18	18·57

Weiter bedingt die verschiedene Altersbesetzung auch in den höheren Altersclassen erhebliche Verschiedenheiten, die bei Vergleichen zwischen Stadt und Land, Ackerbau- und Industriedistricten u. s. w. in Betracht kommen. In diesem Falle kann die directe Berechnung einer Sterblichkeitsziffer nicht mehr genügen; statt der Erhebung der jeweiligen Sterbecoëfficienten der einzelnen Altersclassen sind verschiedene Methoden in Vorschlag gebracht worden von Engel, Vogt, Bleicher, Ogle, v. Körösi u. A., um einen einheitlichen Maassstab für die Sterblichkeit bei verschiedener Altersbesetzung berechnen zu können. Am meisten Anklang hat die durch v. Körösi vorgeschlagene Berechnung eines Mortalitätsindex mittels einer Standardbevölkerung gefunden. Durch die letztere werden aber nur die Altersunterschiede ausgemerzt, die Veränderungen der Sterbeziffern durch Ortsfremde, durch die verschiedenen Grade der Wohlhabenheit u. dgl. werden dadurch nicht ausgeschlossen. Der Nachtheil eines derartigen Mortalitätsindex ist vor Allem der, dass es sich nicht um ein directes Verhältniss handelt, sondern dass er auf der Annahme einer gleichen Altersbesetzung verschiedener Bevölkerungen beruht.

Eine alljährliche Berechnung von Sterbetafeln, wie sie Boeckh für Berlin eingeführt hat, kann stets nur für beschränkte Gebiete in Frage kommen.

Bei manchen Städten, besonders kleineren mit grossen Krankenhäusern, wirkt die beträchtliche Zahl der gestorbenen Ortsfremden störend auf die Berechnung der Sterblichkeitsziffer; es wurde daher bei der 3. Session des internationalen statistischen Institutes beschlossen,

[1] *Gesetzmässigkeit und Gesellschaftsleben.* München 1877. S. 296.



Personen, die von auswärts in krankem Zustande in die Spitäler, Irrenhäuser, Gebärhäuser und Gefängnisse kommen und dort sterben, auszuschliessen, wie dies schon zuvor für die französischen, belgischen und italienischen Städte eingeführt war. Auch bei einer Anzahl von deutschen Städten ist in den Veröffentlichungen des Kaiserl. Gesundheitsamtes zugleich die Sterblichkeit ohne Ortsfremde angegeben. Die Unterschiede sind besonders gross in kleineren Universitätsstädten. So betrug 1881 bis 1890[1] die Sterblichkeit:

	Mit Ortsfremde	Ohne Ortsfremde
In Göttingen	25·22	18·25
„ Erlangen	30·84	20·33
„ Freiburg	23·82	19·06
„ Heidelberg	24·16	18·73

Sehr bedeutend sind die Unterschiede in einer Anzahl österreichischer Städte. Es war 1886 bis 1890[2] die Sterblichkeit:

	Mit Ortsfremden	Ohne Ortsfremden	Proc. der in Anstalten Verstorbenen
In Salzburg	38·2	23·1	41·3
„ Klagenfurt	35·2	22·7	53·4
„ Laibach	42·0	25·8	44·5
„ Prag	35·9	27·9	50·7
„ Reichenberg	34·1	23·8	47·6
„ Brünn	35·3	28·4	37·6
„ Krakau	32·6	24·0	51·7
„ Zara	32·1	20·8	40·6

Es wäre aber ganz verfehlt, mit J. Rychna[3] die Mortalität mit Ausschaltung der Ortsfremden als Salubritätsziffer anzusehen, da dabei die Höhe der Geburtsziffer ganz ausser Rechnung bleibt. Th. Altschul[4] berechnet eine solche durch Ausschaltung der gewaltsamen Todesfälle, der Ortsfremden und der Säuglingssterblichkeit. Alle diese Künsteleien sind aber in hohem Grade geeignet, die wirklichen Verhältnisse zu verdecken: wo besondere Umstände die allgemeine Sterblichkeit erhöhen, müssen dieselben für sich berechnet werden. Es ist daher auch auf der Con-

[1] *Mittheilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1893. Bd. I. S. 152ff.

[2] *Stat. Monatsschrift.* Wien 1891. Bd. XVII. S. 82.

[3] Ueber die Salubritätsziffer. *Ebenda.* Bd. XVII. S. 175.

[4] *Kritische Bemerkungen zur medicin. Statistik in klin. Zeit- und Streitfragen.* Wien 1894. Bd. VIII. H. 8.



ferenz der deutschen Städtestatistiker in Lübeck 1893 beschlossen worden, die bisherige Berechnung der Sterblichkeitsziffer nicht fallen zu lassen. Es kann uns eine einzige Ziffer über die Gesundheitsverhältnisse einer Stadt keine Auskunft geben, hierzu ist eine genaue Kenntniss des Alters der Lebenden und der Gestorbenen, der Wohlhabenheit derselben und vor Allem der Todesursachen nöthig; denn wir werden da die besten hygienischen Zustände vermuthen, wo die Todesfälle an infectiösen Krankheiten am wenigsten zahlreich sind.

Bei der Untersuchung der Sterblichkeit von Ländern und Landestheilen und besonders der zeitlichen Gestaltung derselben ist es von Bedeutung, dass die Geburtsziffern in ihrer Höhe beträchtlich wechseln, und dass die Kindersterblichkeit viel grössere Schwankungen zeigt, als die Gesammtsterbeziffer. Es ist daher bei solchen Untersuchungen absolut nothwendig, diese beiden Factoren auszuschalten und die Kindersterblichkeit für sich allein in Betracht zu ziehen. Der Einfluss verschieden hoher Geburtsziffern wird durch die Ausschaltung der gestorbenen Säuglinge allerdings nicht ganz beseitigt, da er auch für die späteren Kinderjahre noch vorhanden ist; da aber die Sterblichkeit nach dem ersten Lebensjahre rasch abnimmt, ist er nur gering. Der Betrag, um welchen eine grössere Geburtsziffer die Sterblichkeit im Alter von 1 bis 5 Jahren und somit die allgemeine Sterbeziffer erhöht, lässt sich leicht bestimmen, wenn man berechnet, wie viel im Alter von 1 bis 5 Jahren auf 1000 Einwohner bei gleicher Besetzung dieser Altersclasse gestorben wären. Der Antheil derselben an der Sterbeziffer (ohne Todtgeborene) und der Procentbetrag der 1- bis 5jährigen in der ganzen Bevölkerung sind für die Jahre 1871 bis 1880 und für die folgenden Länder berechnet:

	Todesfälle im Alter von 1—5 Jahren auf 1000 Einwohner	Lebende von 1—5 Jahren unter 100 Einwohnern
In Frankreich	2·15	7·50
„ Preussen	4·15	10·56
„ England u. Schottland .	3·31	10·59
„ Schweden	2·42	9·46
„ Oesterreich	5·33	9·92
„ Italien	6·27	9·02

Setzt man nun den Fall,[1] dass in allen Ländern die Zahl der 1- bis 5jährigen 7·5 Procent der gesammten Bevölkerung wie in Frankreich

[1] In gleicher Weise lässt sich durch eine verhältnissmässig einfache Correctur an der allgemeinen Sterblichkeitsziffer auch für die Sterbefälle der Säuglinge der Einfluss verschieden hoher Geburtsziffern eliminiren.

27*



betragen würde, und bringt man bei der Rechnung den dadurch bedingten Ausfall zugleich bei den Gestorbenen und Lebenden in Abzug, so kämen auf 1000 Einwohner Sterbefälle im 1. bis 5. Lebensjahre in:

Frankreich	2·15	Procent
Preussen	3·20	"
England und Schottland	2·55	"
Schweden	1·96	"
Oesterreich	4·13	"
Italien	5.29	"

Wir erhalten demnach die folgenden Differenzen, um welche die allgemeine Sterblichkeit geringer wäre, wenn die Altersbesetzung des 1. bis 5. Lebensjahres in allen Ländern gleich derjenigen Frankreichs wäre. Zur Erläuterung sind die Geburtsziffern für die gleichen Perioden beigefügt.

	Differenz der berechneten u. beobachteten Zahlen	Lebendgeborene auf 1000 Einwohner
Frankreich	0	25·5
Preussen	0·95	39·6
England u. Schottland . .	0·76	35·4
Schweden	0·46	30·5
Oesterreich	1·20	39·0
Italien	0·98	36·9

Nach dem 5. Lebensjahre hat die Höhe der Geburtsziffer in Folge der kleinen Sterblichkeit der Kinder im Alter von 5 bis 14 Jahren kaum mehr eine Bedeutung für die allgemeine Sterblichkeit. Es wird aber selbst bei so grossen Unterschieden der Geburtsziffer, wie sie Frankreich und Preussen zeigen, die Gesammtmortalität durch diejenige des 1. bis 5. Lebensjahres nur wenig verändert. Die Grösse der dadurch veranlassten Differenz lässt sich leicht im einzelnen Falle mit Hülfe der Geburtsziffer ungefähr bestimmen. Dabei ist aber im Auge zu behalten, dass bei grösserem Kinderreichthume die Gefährdung derselben durch Infectionskrankheiten eine grössere ist, als bei einer schwachen Besetzung der betreffenden Altersclassen. Gerade durch Infectionskrankheiten ist die Altersperiode des 1. bis 5. Lebensjahres besonders bedroht, so dass diese für die Beurtheilung der allgemeinen Sterblichkeit von Wichtigkeit ist, während die Säuglingssterblichkeit hauptsächlich mit einer unzweckmässigen Ernährung zusammenhängt und auch bei einer ganz bedeutenden Höhe derselben die allgemeinen hygienischen Verhältnisse im Uebrigen gute sein können.



Bei weiter zurückliegenden Perioden ist es nun nicht immer möglich, die Grundzahlen zur Berechnung der Sterblichkeit der Uebereinjährigen zu erhalten und es muss daher die letztere auf andere Weise gefunden werden. Sind Kindersterblichkeit, Geburtsziffer und allgemeine Sterblichkeit bekannt, so lässt sich dieselbe leicht ausführen.

Es ist zunächst zu berechnen, wie viel von 1000 Einwohnern über 1 Jahr alt sind. Die Zahl der jeweils im 1. Lebensjahre Stehenden wird bestimmt durch die Höhe der Geburtsziffer und der Kindersterblichkeit. Da die Zahl der innerhalb des Geburtsjahres wieder gestorbenen Lebendgeborenen etwa $^2/_3$ der Gesammtkindersterblichkeit beträgt,[1] so sollte man annehmen, dass die Zahl der bei einer Volkszählung lebenden Kinder des 1. Lebensjahres durch die Zahl der im vorangegangenen Jahre Lebendgeborenen weniger $^2/_3$ der Säuglingsmortalität bestimmt würde. Wird diese Rechnung ausgeführt, so erhält man viel höhere Ziffern für die Kinder des 1. Lebensjahres, als sie bei den Zählungen gewonnen werden. Es hängt dies damit zusammen, dass bei denselben die einjährigen Kinder nur unvollständig eingetragen werden, theils aus Gleichgültigkeit der Eltern, theils wegen absichtlicher Verschweigung unehelicher Kinder.[2] Man bekommt daher den durch die Zählungen erhaltenen Werthen viel näher stehende Zahlen, wenn man sämmtliche im 1. Lebensjahre gestorbene Kinder (ohne Todtgeborene) von den Lebendgeborenen abzieht. Die folgende Tabelle lehrt dies deutlich. Dieselbe ist nach den Zusammenstellungen der deutschen Reichstatistik[3] berechnet.

Land	Periode	Lebendgeborene	Gestorbene des 1. Lebensjahres	Durchschnittl. Bestand an Einjährigen	
				nach der Zählung	nach d. Berechnung
Pr. Westpreussen . . .	1872—80	60 478	14 271	46 230	46 207
„ Berlin	„	41 127	12 712	29 880	28 415
„ Pommern	„	58 044	11 437	47 020	46 607
„ Posen	„	73 419	16 622	56 960	56 797
„ Rheinprovinz	„	152 362	27 581	124 630	124 781
Kgr. Preussen	„	1 026 364	217 115	820 000	809 249
„ Bayern	„	206 406	63 119	148 060	143 287
„ Sachsen	„	120 588	33 965	89 600	86 623
Grssh. Baden	„	58 890	15 111	41 940	43 779

[1] Vgl. F. J. Neumann, Pauperismus und Kindersterblichkeit. *Jahrb. f. Nat. u. Stat.* 3. F. Bd. V. S. 617.

[2] G. v. Mayr, *Statistik und Gesellschaftslehre.* 1897. Bd. II. S. 75 u. 288.

[3] Stand und Bewegung der Bevölkerung des deutschen Reichs und fremder Staaten. 1841—1886. *Stat. d. d. R.* Berlin 1892. N. F. Bd. XLIV.



(Fortsetzung.)

Land	Periode	Lebendgeborene	Gestorbene des 1. Lebensjahres	Durchschnittl. Bestand an Einjährigen	
				nach der Zählung	nach d. Berechnung
Westösterreich	1871—80	553 602	141 752	439 140	411 850
Galizien u. Bukovina . .	„	278 473	71 697	239 260	206 776
Italien	1872—80	1 015 577	216 927	763 780	798 650
Frankreich	1871—80	934 939	156 766	746 090	778 173
England u. Schottland . .	„	982 109	142 859	821 450	839 250
Niederland	„	138 674	28 210	119 160	110 464
Dänemark	„	59 321	8 186	49 520	51 135
Schweden	„	133 730	17 400	114 220	116 330

Man sieht, dass die unterlassenen Anzeigen der Einjährigen bei den Volkszählungen sehr zahlreich sind, so dass man bei Abzug von nur $^2/_3$ der gestorbenen Säuglinge zu grosse Ziffern erhalten würde. In der Rheinprovinz und in Baden, ferner in Italien, Frankreich, England mit Schottland, Dänemark und Schweden genügt sogar der Abzug der ganzen Zahl der gestorbenen Säuglinge nicht, um den durch die Zählungen erhaltenen Bestand an Lebenden des 1. Jahres zu erreichen. Durchgehends sind aber die Differenzen der durch die Zählung und durch Berechnung erhaltenen Zahlen der lebenden Einjährigen so gering, dass das Resultat bei der Berechnung der Sterblichkeitsziffern der Uebereinjährigen nicht beeinflusst wird, wenn man die Zahl der Geburten abzüglich aller im 1. Lebensjahre Gestorbenen als mittlere Zahl der Lebenden dieses Alters annimmt.

Die Berechnung der Sterblichkeit der Uebereinjährigen aus den gegebenen **Verhältnisszahlen** gestaltet sich dann ganz einfach. Es bezeichne m die allgemeine Sterbeziffer, m' die Zahl der im 1. Lebensjahre auf 1000 Einwohner Gestorbenen $\left(= \frac{\text{Geburtsziffer} \times \text{Kindersterblichkeit}}{100}\right)$, g die Geburtsziffer (alle sämmtlich ohne Einbeziehung der Todtgeborenen), so sterben jährlich von 1000 Uebereinjährigen:

$$\frac{1000\,(m - m')}{1000 - (g - m')}.$$

Die folgenden Ziffern werden zeigen, dass die mittels dieser Formel aus den Verhältnissen berechnete Sterblichkeit der Uebereinjährigen fast genau dieselben Resultate ergiebt, wie die aus den Grundzahlen berechnete.

Land	Periode	Sterbeziffer	Kindersterblichkeit	Geburtsziffer	Sterblichkeit der Uebereinjährigen	
					nach den Grundzahl.	nach obiger Formel
Preussen . .	1872—80	26·26	21·2	39·57	18·50	18·49
Bayern . . .	„	30·48	30·6	40·77	18·58	18·55
Sachsen . .	„	28·86	28·2	43·43	17·22	17·20
Baden . . .	„	26·92	25·7	38·81	17·47	17·46
Hessen . . .	„	24·07	19·2	36·74	17·52	17·52
Elsass-Lothr. .	„	25·98	22·0	34·38	18·93	18·93
Oesterreich .	1871—80	31·54	25·6	39·0	22·24	22·17
Frankreich .	1872—80	22·43	16·6	25·5	18·56	18·57
Italien . . .	„	30·0	21·4	36·9	22·70	22·75
Engl.-Schottl.	1871—80	21·4	14·5	35·4	16·75	16·77
Schweden . .	„	18·2	13·0	30·5	14·68	14·62

Es steht demnach nichts im Wege, die Sterblichkeit der Uebereinjährigen in der genannten Weise aus den Verhältnisszahlen zu berechnen; zugleich sehen wir aus den obigen Ziffern, wie verschieden die Reihenfolge sich gestaltet, je nachdem die Säuglingsmortalität mit einbezogen wird oder nicht.

Einige Beispiele mögen die Wichtigkeit der Berechnung der Sterblichkeit der Uebereinjährigen für das Verständniss der zeitlichen Entwickelung der Sterblichkeit erläutern. Es sind hierzu Zusammenstellungen über die Höhe der Kindersterblichkeit nöthig, die bisher nur vereinzelt vorhanden waren; so weit darüber Veröffentlichungen stattfanden, wurden dieselben erstmals von mir für die europäischen Staaten gesammelt.[1] Zunächst folgen die Ziffern (stets ohne die Todtgeborenen) für das Königreich **Preussen**, bis 1866 mit den alten, von da an auch mit den neuen Provinzen.

	Geburtsziffer	Kindersterblichkeit	Gesammtsterblichkeit	Sterblichkeit der Uebereinjährigen
1816—1820	43·0	16·9	28·5	21·9
1821—1830	40·3	17·4	28·0	21·9
1831—1840	38·4	18·3	30·0	23·7
1841—1850	38·2	18·6	29·0	22·6
1851 - 1860	37·7	19·7	28·9	22·2
1861—1870	38·5	21·1	28·9	21·4
1871—1880	39·2	21·4	26·4	18·6
1881—1890	37·5	20·8	24·5	17·2
1891—1895	37·1	20·5	22·8	15·7

[1] Siehe F. Prinzing, Die Entwickelung der Kindersterblichkeit in den europ. Staaten. *Jahrb. f. Nat. u. Stat.* 1899. 3. F. Bd. XVII. S. 577.

Darnach wird der Verlauf der Gesammtsterblichkeit in Preussen, insbesondere auch deren Abnahme seit 1870, durch die Abnahme der Mortalität der Uebereinjährigen bedingt; die Zunahme der Kindersterblichkeit bis zum Jahre 1880 kommt nicht zum Ausdruck in den allgemeinen Sterbeziffern, da eine Abnahme der Geburtenziffer nebenher geht; nur 1821 bis 1830 wird die kleine Abnahme der Gesammtsterblichkeit ausschliesslich durch den Rückgang der Geburtsziffer und 1861 bis 1870 das Gleichbleiben der Gesammtsterblichkeit durch die starke Zunahme der Säuglingsmortalität bedingt, während in der ersteren Periode die Sterblichkeit der Uebereinjährigen gegenüber der Vorperiode gleich bleibt und 1861 bis 1870 abnimmt.

Im Königreich Sachsen war der Gang der Sterblichkeit folgender:

	Geburtsziffer	Kinder-sterblichkeit	Gesammt-sterblichkeit	Sterblichkeit der Uebereinjährigen
1841—1850	39·4	26·1	28·4	18·7
1851—1860	39·2	25·5	27·1	17·6
1861—1870	40·4	26·7	28·1	17·8
1871—1880	42·8	28·2	29·1	17·2
1881—1890	41·9	28·2	27·8	16·6
1891—1895	39·8	28·0	25·1	15·6

Die Zunahme der Gesammtmortalität 1861 bis 1880 ist allein der höheren Kindersterblichkeit und grösseren Geburtsziffer zuzuschreiben; die Abnahme 1891 bis 1895 gegenüber der Vorperiode rührt nur zum kleineren Theil von der Abnahme der Sterblichkeit der Uebereinjährigen, zum grösseren Theil von der beträchtlichen Abnahme der Geburtsziffer (um 2 pro mille) her.

Noch viel bedeutender ist der Einfluss der Kindersterblichkeit und Geburtsziffer auf die allgemeine Mortalität in Süddeutschland, wo in den letzten Jahrzehnten dieselben sehr bedeutend zurückgegangen sind. Für das Königreich Bayern liegen folgende Zahlen vor:

	Geburtsziffer	Kinder-sterblichkeit	Gesammt-sterblichkeit	Sterblichkeit der Uebereinjährigen
1836—1840	34·2	29·5	28·4	19·4
1841—1848	34·2	29·9	28·0	18·2
1849—1855	33·6	30·3	27·8	18·1
1856—1862	33·4	31·9	27·6	17·7
1863—1869	36·7	32·7	30·1	20·4
1870—1875	39·9	31·9	31·8	19·6
1876—1880	40·6	29·8	29·8	18·2
1881—1885	37·6	28·7	28·6	18·3
1886—1890	36·0	28·0	27·3	17·6
1891—1895	36·3	27·2	26·4	16·9



Die Schwankungen der Gesammtsterblichkeit in Bayern werden demnach zum grossen Theil durch die Höhe der Geburtsziffer und Kindersterblichkeit hervorgerufen; so fällt vor Allem die Zunahme der Sterblichkeit 1870 bis 1875 gegenüber der Vorperiode auf, trotz einer Abnahme der Sterblichkeit der Uebereinjährigen und einer kleinen Abnahme der Kindersterblichkeit, also nur als Folge der beträchtlichen Zunahme der Geburtsziffer; die seit 1875 beobachtete Abnahme der Sterblichkeit wird ebenso fast nur durch den Rückgang der Kindersterblichkeit und der Geburtsziffern verursacht, wenigstens bis 1885; erst von diesem Zeitpunkte an vermindert sich auch die Sterblichkeit der Uebereinjährigen erheblicher.

Noch deutlicher kommt der Einfluss der Geburtsziffer und Kindersterblichkeit in Württemberg zum Ausdruck.

	Geburtsziffer	Kinder-sterblichkeit	Gesammt-sterblichkeit	Sterblichkeit der Uebereinjährigen
1846—1856	36·5	34·8	29·9	17·6
1858—1862	38·1	35·3	29·2	16·2
1862—1868	40·6	36·0	31·0	16·8
1871—1880	43·1	31·7	30·9	17·7
1881—1890	35·8	26·8	25·7	16·5
1891—1895	34·0	25·4	24·8	16·6

Hier werden die Schwankungen der Gesammtsterblichkeit fast allein durch die Häufigkeit der Geburten und Todesfälle des 1. Lebensjahres bedingt, insbesondere gilt dies für die bedeutende Abnahme der Sterblichkeit seit 1880. Die Sterblichkeit der Uebereinjährigen ändert sich nur wenig, nur 1846 bis 1856 in Folge des grossen Nothstandes der Landwirthschaft und 1871 bis 1880 in Folge des Krieges, der Cholera- und Pockenepidemieen ist sie etwas höher.

Ganz ähnlich sind die Verhältnisse in Baden.

	Geburtsziffer	Kinder-sterblichkeit	Gesammt-sterblichkeit	Sterblichkeit der Uebereinjährigen
1852—1863	33·3	26·1	26·1	17·8
1864—1870	37·8	28·1	28·1	18·0
1871—1880	38·5	26·2	27·4	17·5
1881—1890	33·2	22·9	23·2	16·0
1891—1895	32·9	22·3	22·9	16·0

Hier ist die Zunahme der Sterblichkeit 1864 bis 1870 gegenüber der Vorperiode fast allein der Erhöhung der Geburtsziffer zuzuschreiben und die Abnahme jener seit 1870 um 5·2 pro mille ist zum geringsten Theil durch die Abnahme der Mortalität der Uebereinjährigen, vielmehr hauptsächlich durch die kleinere Kindersterblichkeit und Geburtsziffer bedingt.



Als ein weiteres Beispiel bedeutender Schwankungen der Sterblichkeit soll Berlin folgen; hier waren die Zahlen in den betreffenden Zeitabschnitten folgende:

	Geburtsziffer	Kinder-sterblichkeit	Gesammt-sterblichkeit	Sterblichkeit der Uebereinjährigen
1819—1833	34·1	21·7	28·8	21·9
1834—1848	32·9	22·5	26·8	19·9
1849—1863	34·5	25·1	26·3	18·1
1864—1870	38·4	31·5	31·2	19·6
1871—1875	40·1	34·0	32·5	19·4
1876—1880	42·3	29·8	29·0	16·9
1881—1885	36·4	27·9	26·4	16·7
1886—1890	33·0	26·3	22·3	13·9
1891—1995	29·6	24·2	19·9	13·0

Die Abnahme der Gesammtsterblichkeit in Berlin ist eine ganz riesige; sie beträgt 12·6 pro mille von 1871 bis 1875 bis 1891 bis 1895; etwa zur Hälfte ist sie auf den Rückgang der Sterblichkeit der Uebereinjährigen, zur anderen auf die Abnahme der Säuglingsmortalität und Geburtsziffer zurückzuführen. Besonders in die Augen fallend ist die Einwirkung des Rückganges der Geburtsziffer 1881 bis 1885 gegenüber der Vorperiode, da hier die Sterblichkeit der Uebereinjährigen gar nicht, die Säuglingsmortalität nur wenig, dagegen die Zahl der Geburten ganz bedeutend zurückging, so dass die Abnahme der Gesammtmortalität um 2·6 pro mille fast allein der Abnahme der Geburtsziffer zuzuschreiben ist. In ein helles Licht wird die Abnahme der Sterblichkeit in Berlin gestellt, wenn wir ihr die Verhältnisse der Provinz Brandenburg gegenüberstellen. Hier waren die Ziffern die folgenden:

	Geburtsziffer	Kinder-sterblichkeit	Gesammt-sterblichkeit	Sterblichkeit der Uebereinjährigen
1819—1833	37·6	15·9	24·4	19·0
1834—1848	36·1	17·3	24·0	18·3
1849—1863	36·3	18·7	23·6	17·3
1864—1870	35·9	18·9	25·1	18·9
1871—1880	37·8	24·1	25·8	17·2
1881—1890	36·5	24·8	25·0	16·4
1891—1895	35·7	25·4	23·5	14·8

Wir haben am Anfang der Reihe fast dieselbe Sterblichkeit wie am Ende derselben und doch, welcher Unterschied in der Betheiligung der Säuglinge und Uebereinjährigen! Die Geburtsziffern bleiben annähernd



auf gleicher Höhe; die Zunahme der allgemeinen Sterblichkeit in den Jahren 1864—1870 (Seuchen- u. Kriegsjahre!) ist allein durch die Uebereinjährigen bedingt, während die erhöhte Gesammtmortalität 1871 bis 1890 allein der ganz bedeutenden Zunahme der Kindersterblichkeit zuzuschreiben ist, da daneben die Sterblichkeit der Uebereinjährigen zurückgeht. Hierdurch wird endlich die Abnahme der Gesammtsterblichkeit 1891 bis 1895 bedingt.

In Frankreich, Oesterreich und Italien sind Geburtsziffer und Kindersterblichkeit keinen sehr grossen Schwankungen ausgesetzt gewesen und daher wird der Verlauf der Gesammtmortalität ziemlich demjenigen der Sterblichkeit der Uebereinjährigen entsprechen. Es waren die Ziffern in Frankreich:

	Geburtsziffer	Kindersterblichkeit	Gesammtsterblichkeit	Sterblichkeit der Uebereinjährigen
1841—1850	27·3	16·0[1]	23·3	19·5
1851—1860	26·2	17·2[2]	23·9	19·8
1861—1870	26·1	17·8[3]	23·6	19·3
1871—1880	25·4	16·7[4]	23·6	19·7
1881—1890	24·0	16·6	22·2	18·6
1891—1895	22·4	16·8	22·3	18·8

in Oesterreich:

	Geburtsziffer	Kindersterblichkeit	Gesammtsterblichkeit	Sterblichkeit der Uebereinjährigen
1831—1840	39·2	27·9	32·2	23·8
1841—1850	37·8	25·4	33·8	24·9
1851—1860	36·9	24·9	31·3	22·7
1861—1870	38·3	25·7	30·7	21·5
1871—1880	39·0	25·6	31·5	22·2
1881—1890	38·1	25·0	29·7	20·8
1891—1895	37·2	24·6	27·8	19·1

und in Italien:

	Geburtsziffer	Kindersterblichkeit	Gesammtsterblichkeit	Sterblichkeit der Uebereinjährigen
1863—1871	37·4	22·4	30·3	22·6
1872—1880	36·9	21·4	30·0	22·7
1881—1890	38·8	19·5	27·3	20·3
1891—1896	36·1	18·3	25·4	19·4

In allen drei Ländern ist die Sterblichkeit der Uebereinjährigen sehr gross; bei den geringen Schwankungen der Geburtsziffern und der Kindersterblichkeit bestimmt sie ohne erhebliche Ausnahmen den Gang der allgemeinen Mortalität.

[1] 1840—49. [2] 1850—59. [3] 1860—72 (ohne 1871). [4] 1873—80.



Die angeführten Beispiele dürften genügen, um zu zeigen, wie vorsichtig man eine Ab- oder Zunahme der allgemeinen Sterblichkeit beurtheilen muss. Mit der Ausschaltung der Säuglingsmortalität und Geburtsziffer ist freilich noch nicht Alles geschehen, vielmehr erfordert der bedeutende Rückgang der Sterblichkeit der Uebereinjährigen, wie wir ihn für Preussen und Berlin gefunden haben, ein weiteres Eingehen darauf, welche Todesursachen daran betheiligt sind. Die Abnahme der Sterblichkeit der Uebereinjährigen in Preussen seit 1831 bis 1840, in welchem Jahrzehnt diese, vor Allem in Folge der Choleraepidemieen, eine ganz bedeutende Höhe erreicht hatte, kann nicht als etwas Zufälliges betrachtet werden; vielmehr ist namentlich der bedeutende Rückgang seit 1870 einestheils auf die Fortschritte der Hygiene und die sanitätspolizeilichen Maassnahmen, anderentheils auf die wirthschaftlich günstigere Lage, die eben die letzteren ermöglicht, zurückzuführen.



[Aus dem serotherapeutischen Institute (Vorstand: Prof. R. Paltauf) und dem chemischen Laboratorium der Krankenanstalt Rudolfsstiftung (Vorstand: Dr. E. Freund) in Wien.]

Ueber Darstellung des Heilkörpers aus dem Diphtherieheilserum.

Von

Dr. E. Freund und Dr. C. Sternberg.

Bezüglich der chemischen Natur des Diphtherie-Antitoxins liegen uns Angaben von Brieger[1] vor, dem es gelang, durch Fällung des Heilserums mit Chloralkalien und Metallsalzen das Antitoxin von einem Theil der anhaftenden Eiweisskörper zu befreien.

Die im hiesigen Institute[2] ausgeführten Arbeiten ergaben im Wesentlichen die Bestätigung der Angaben Brieger's, nur entstanden bei der Durchführung dieser Principien im Grossen Schwierigkeiten, indem das schliesslich erhaltene Präparat in Lösung stark getrübt war und eine Klärung desselben mit Schonung des Antitoxins sich undurchführbar erwies.

Bei der Empfindlichkeit des Antitoxins, das weder Säuren, noch Alkalien, noch Hitze, noch Ferment-Einwirkung verträgt, war man behufs Reindarstellung desselben darauf angewiesen, die Versuche mit Metallsalzen fortzuführen.

Unter den von Brieger nicht geprüften Salzen ergaben Strontium- und Kobaltsalze negative Resultate.

Anders verhielten sich Aluminiumsalze, die in Form von Aluminiumsulfat und Kalialaun angewendet wurden. Auf Zusatz dieser Salze (in

[1] Ueber Antitoxine und Toxine. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXI.

[2] Die ersten Versuche wurden von den Herren Dr. Ender und Dr. Bondi ausgeführt.



5 procent. Lösungen) entstand im Blutserum ein mächtiger, die ganze Flüssigkeit binnen wenigen Minuten in eine gallertige Masse umwandelnder Niederschlag, der gut abfiltrirte und nach Auswaschen keine nennenswerthen Mengen von Heilstoff enthielt, während das Filtrat denselben aufgenommen hatte. Die Versuche, ihn aus dieser Lösung mittels Chlorzink zu fällen, ergaben das überraschende Resultat, dass sowohl Chlorzink als Zinksulfat überhaupt keinen Niederschlag hervorriefen. Das Fehlen dieses Niederschlages war nicht durch die Gegenwart eines Ueberschusses von Kalialaun bedingt, da auch nach 8tägigem Dialysiren der Flüssigkeit mit Chlorzink kein Niederschlag erzielt werden konnte. Eine geringe Spur Kalialaun war allerdings auch nach 8tägigem Dialysiren noch in der Asche der Flüssigkeit nachweisbar.

Versuche, unlösliche Zinksalze zu erzeugen, führten zu dem Ergebnisse, dass weder Zinkcarbonat noch Zinkphosphat das Antitoxin unlöslich machten. Im Gegensatz hierzu riss der mit Zinkhydrat erzeugte Niederschlag den gesammten Heilstoff mit sich fort; aus dem abfiltrirten Niederschlag liess sich der Heilstoff durch Auswaschen mit schwacher Lauge im Ueberschusse ausziehen. Zur Entscheidung der Reactionsgrenze erwies sich die Verwendung des Phenolphtaleïns als zweckentsprechend.

In dem Filtrate der mit Kalialaun versetzten Flüssigkeit brachte Zusatz von Lauge (wenn mehr als ein Drittheil Kalialaunlösung dem Serum zugesetzt worden war) einen Niederschlag von Kalialaunhydrat hervor, der ebenfalls den Heilkörper enthielt und sich in überschüssiger Lauge löste.

Bei Verwendung von Barytwasser wurde der Heilkörper zerstört.

Bei Uebertragung aller der erwähnten Experimente auf die Darstellung im Grossen entstanden Schwierigkeiten, die hauptsächlich in der Gefahr bestanden, durch zu starke Alkalisirung den Heilkörper zu zerstören.

Im Bestreben, albumosenartige Substanzen abzutrennen, wandten wir uns der Verwendung des Eisenchlorids zu.

Es ergab sich hierbei, dass bei Zusatz des halben Volumens Eisenlösung zu einem bestimmten Quantum Serum der Heilkörper fast vollkommen in dem Filtrat erscheint, während bei Zusatz der gleichen oder doppelten Menge Eisen der Heilkörper sich im Filterrückstand findet. Beide Thatsachen waren jedoch weiter nicht verwerthbar, da in ersterem Falle zugleich mit dem Heilkörper auch fast die ganze Eiweissmenge des Serums wieder im Filtrat erschien, während es bei dem zweiterwähnten Verfahren nicht gelang, den Heilkörper frei zu machen. Eine grössere Reihe hierauf ausgehender Versuche mit verschiedenen Combinationen von Natronlauge, phosphorsaurem Natron, schwächeren Lösungen von kohlensaurem Natron u. s. w. blieb vollkommen erfolglos, vielmehr gelang es nur, durch Auflösen, bezw. Auswaschen des Niederschlages mit einer

starken (20procent.) Lösung von kohlensaurem Natron und nachfolgender Filtration den Heilkörper in das Filtrat zu bekommen. Hierbei wird aber auch ein grosser Theil des gefällten Eiweisses aufgelöst, so dass das erhaltene Präparat dem angestrebten Zwecke nicht entspricht.

Dasselbe ist der Fall, wenn man das Serum mit der erwähnten Eisenchloridlösung (ungefähr im gleichen Volumen) vermengt und zu dieser Mischung oder schon vorher zu der Eisenchloridlösung essigsaures Natron in Substanz oder in Lösung (auf je 300 ccm Serum etwa 40 grm essigsaures Natron) zusetzt. Auch bei diesem Verfahren gelingt es, den Heilkörper in das Filtrat zu bekommen, es gehen aber zugleich reichlich Eiweisskörper mit.

Zu demselben Resultate führten Versuche, die Brieger-Boer'sche Methode mit der Eisenfällung zu combiniren; vortheilhafter war es, nach Aussalzung des Serums mit Chlorkalium und Kochsalz (bei Brütofentemperatur) das erhaltene Filtrat mit einer geringen Menge Eisenchloridlösung zu versetzen. Doch wies auch dieser Weg kein befriedigendes Ergebniss auf, ebenso wenig wie der Versuch, das Serum zunächst mit dem halben Volumen Eisenchloridlösung zu fällen und das Filtrat sodann mit schwefelsaurem Ammonium halb zu sättigen.

Die erwähnten, sowie eine Reihe anderer Versuche (z. B. mit Carbolsäure, Alkohol u. s. w.) führten stets zu einer Bestätigung der schon von Brieger und Boer gemachten Erfahrungen, dass bei einer Reihe der Proceduren die Antitoxine direct zerstört werden, während bei einer anderen Reihe derselben Eiweissfällungen entstehen, „welche zwar Antitoxine mit einschliessen und selbst nach scharfem Trocknen löslich bleiben, die aber für praktische Zwecke unbrauchbar sind, da erst nach vollständigem Ausfällen der Eiweisskörper auch die Antitoxine quantitativ mit niedergerissen werden."

Günstigere Ergebnisse erzielten wir durch Aussalzen des Heilserums mittels Magnesiumsulfat oder Ammoniumsulfat (bei letzterem bis zur halben Sättigung). In beiden Fällen liess sich der Heilkörper vollständig im Niederschlag unlöslich machen, nur muss bei Benutzung von Magnesiumsulfat die Sättigung bei Zimmertemperatur (17 bis 19°) vorgenommen werden, um wirklich eine vollständige Ausbeute zu erzielen. Die erhaltenen Niederschläge konnten dialysirt und im Vacuum eingeengt werden, ohne dass hierbei ein Verlust an Antitoxin zur Beobachtung gelangt wäre.

Allerdings zeigten die schliesslich sich ergebenden Flüssigkeiten eine Trübung oder starke Opalescenz, die eine therapeutische Verwendung unzweckmässig erscheinen liess.

In weiterer Verfolgung dieser Versuche haben wir uns schliesslich zu einer Combination des Fällungs- und Aussalzungsvorganges entschlossen,



indem wir zunächst das Serum mit einem Drittheil seines Volumens einer 5 procent. Kalialaunlösung versetzten, das Filtrat dialysirten, den geringen, hierbei entstehenden Niederschlag abfiltrirten und die erhaltene Flüssigkeit zur Hälfte mit schwefelsauerem Ammon sättigten; der gewonnene Niederschlag wird nach Lösung und gründlicher Dialyse im Vacuum eingeengt.

Bei diesem Verfahren erhält man von einem halben Liter Serum im Durchschnitt etwa 9 ^{grm} Trockensubstanz; dieselbe stellt eine braunrothe, leim- oder gelatineähnliche Masse dar,[1] die in Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung vollkommen löslich ist. So wurden beispielsweise in einem Versuche 4·7 ^{grm} Trockensubstanz in 16 ^{ccm} Wasser gelöst, was zwar nur langsam, aber vollständig vor sich ging. Die Lösung stellte eine syrupähnliche, braunrothe Flüssigkeit dar, die leicht getrübt war. Es gelang, dieselbe durch Papierfilter — wenn auch nur sehr langsam — zu filtriren; die hierbei erhaltene Flüssigkeit war vollkommen klar und repräsentirte denselben Heilwerth, den das nicht filtrirte Präparat gehabt hatte (1100 A. E.) Auch Zusatz von Carbolsäure (entsprechend einem $^1/_2$ procentigen Carbolgehalt) änderte den Antitoxingehalt nicht. Löst man die Trockensubstanz in einem grösseren Quantum Flüssigkeit auf, so erhält man ein entsprechend dünnflüssigeres Präparat, das sich auch leichter filtriren lässt.

Vortheilhafter ist es aber, das Eindampfen der Flüssigkeit im Vacuum nicht bis zum vollkommenen Trocknen derselben durchzuführen, sondern dieselbe nur bis zu einer gewissen Consistenz einzumengen, da man auf diese Weise ein vollkommen klares Präparat erhält und das Filtriren überflüssig wird.

Wir haben uns auch überzeugt, dass es möglich ist, bei Beobachtung entsprechender Vorsichtsmassregeln, namentlich während des Aufenthaltes im Vacuumapparate, ein steriles Präparat zu erhalten; ein Zusatz von Carbolsäure beeinträchtigt übrigens, wie erwähnt, den Antitoxingehalt nicht, hat aber Opalescenz der Lösung zur Folge.

Bezüglich der chemischen Natur des Heilkörpers sei nur hervorgehoben, dass derselbe mit den Fällungsmitteln der Globuline unlöslich wird.

[1] Auch bei den früher erwähnten Versuchen bemerkte man — soweit dieselben nicht zum vollkommenen Verluste des Antitoxins geführt hatten — in der nach dem Eindampfen zurückbleibenden Trockensubstanz zahlreiche, gleich beschaffene Partikel.



[Aus dem hygienischen Institut der Universität Breslau.]

Die Verbreitung des Diphtheriebacillus auf der Mundschleimhaut gesunder Menschen.

Von

Dr. med. **Max Kober**
aus Beuthen O/S.

Der Satz, dass ein Bacterium nur dann als Krankheitserreger anzusprechen sei, wenn es ausschliesslich bei der betreffenden Erkrankung gefunden wird und dass da, wo es gefunden wird, auch die betreffende Erkrankung vorhanden sein muss, hat schon seit vielen Jahren eine Einschränkung erfahren. Wir wissen seit Langem, dass das Vorhandensein des Krankheitserregers nicht in allen Fällen gebunden ist an das Auftreten der Erkrankung; denn es giebt Bedingungen, welche das Entstehen der Erkrankung verhindern. Und der oben erwähnte Satz bleibt nur richtig, wenn wir sagen, ein Bacterium sei als Krankheitserreger nur dann anzusprechen, wenn wir es immer bei der betreffenden Erkrankung und in der Regel nur bei dieser Krankheit, und sonst nicht, finden. Damit ist ausgesprochen, dass jede Abweichung von diesem Satze als Ausnahme zu betrachten ist, welche der besonderen Begründung bedarf; damit ist ferner ausgedrückt, dass das Vorkommen des Bacteriums ausserhalb des betreffenden Krankheitsbildes ein relativ seltenes sein muss. Je öfter die Ausnahme vorkommt, um so weniger sicher wird die Regel, das Gesetz dastehen. Es ist deshalb begreiflich, dass sich das Interesse aller Diphtherieforscher immer wieder dem Punkte zuwandte, wie oft sich der als der Erreger der Diphtherie fast allgemein anerkannte Löffler'sche Diphtheriebacillus bei Nichtdiphtheriekranken, zumal bei Gesunden vorfinde. Bei Durchsicht der einschlägigen Litteratur findet man keineswegs



übereinstimmende Befunde. Es ist dies zum grossen Theil darauf zurückzuführen, dass die Schwierigkeit der Diphtheriediagnose nicht immer genügend geschätzt wurde, und dass daher die Normen für die Beurtheilung des Befundes, ob Diphtheriebacillen oder Pseudodiphtheriebacillen vorhanden seien oder nicht, recht variabel waren. So haben Roux und Yersin schon allein aus der Quantität der Bacillen unterscheiden zu können geglaubt, ob es sich um Diphtherie- oder Pseudodiphtheriebacillen handelte, und viele Autoren sind ihnen hierin gefolgt, welche deshalb auch jetzt noch auf die morphologischen Kriterien des Diphtheriebacillus viel weniger Gewicht legen. Die meisten derartigen Untersuchungen sind ausserdem in Krankenhäusern und Kliniken ausgeführt, wo häufig mehr eine extensive als eine intensive Untersuchung stattfinden konnte. Nicht selten sind allerdings Thierversuche mitgetheilt, welche mit Reinculturen angestellt worden sind, und es ist auch zuzugeben, dass wir bisher kein Bacterium kennen, welches in der für Diphtheriebacillen typischen Zeit und in typischer Weise Meerschweinchen tödtet; aber auch nur wenn diese Bedingungen genau berücksichtigt werden, ist der Thierversuch verwerthbar. Werden nicht die typischen pathologischen Veränderungen bei der Section des Meerschweinchens gefunden, so ist wenigstens die Angabe erforderlich, ob die Organe, das Blut steril waren, ob also das Versuchsthier nicht etwa der Infection mit einem anderen Sepsis erregenden Keim erlegen ist. Und ebenso verhält es sich mit der Zeit. Ein Thier, welches mit einem nicht genügend morphologisch bestimmten Bacterium geimpft war und nach einiger Zeit zu Grunde geht, giebt nicht den Beweis ab für eine Infection mit Löffler'schen Bacillen.

Neuerdings wissen wir, dass das morphologische Bild des frisch gezüchteten, unter bestimmten Bedingungen gehaltenen Bacillus ein ausserordentlich gleichmässiges und charakteristisches ist, zu dessen sicherer Erkennung freilich eine gute Schulung gehört. Ueberblicken wir von diesem neueren Standpunkt aus die vorliegende Litteratur, so wird man nicht leicht aus den einzelnen Angaben ersehen können, ob der Verfasser wirklich den Löffler'schen Bacillus vor Augen gehabt hat. Nur wenn der Verfasser sich direct zu dem Roux'schen Standpunkt bekennt und also die Wichtigkeit der morphologischen Merkmale geringer schätzt als die Quantität, werden wir von der statistischen Verwerthung dieser Befunde absehen dürfen.

Litteraturübersicht.

a) Vorkommen von Diphtheriebacillen bei scheinbar gesunden Menschen.

Betrachten wir jetzt die einzelnen Litteraturangaben etwas näher. So berichtet Tangl (1), dass schon Löffler (1) und zu gleicher Zeit Hofmann-Wellenhof (1) je ein Mal den Diphtheriebacillus auf der normalen Rachenschleimhaut gefunden habe. Hallok, Park und Alfred L. Beebe (3) fanden bei 330 gesunden Menschen in 24 Fällen Bacillen, welche dem Löffler'schen Diphtheriebacillus in Allem bis auf die Virulenz glichen. Löffler (64) untersuchte gemeinsam mit Dr. Abel 160 Schulkinder, von denen sich am nächsten Tage bei vier Individuen Diphtheriebacillen auf dem Blutserumröhrchen nachweisen liessen. Keines von den Kindern war bei der Ocularinspection als krank befunden worden. Auch Escherich (4) führt einige Fälle an, in welchen er den Diphtheriebacillus nachweisen konnte, ohne dass irgend welche Krankheitserscheinungen vorhanden gewesen wären. Desgleichen berichtet Vogt (6) aus der Kinderklinik des Reichshospitals in Christiania, dass er bei 26 anscheinend gesunden Kindern 3 Mal Diphtheriebacillen habe nachweisen können. Johanessen (7) fand in der Universitätsklinik in Christiania unter 26 untersuchten Fällen 3 Mal Diphtheriebacillen, obwohl die betreffenden Kinder keine Krankheitssymptome darboten. Wenn indessen Johanessen bei seinen bakteriologischen Befunden nur von Stäbchen oder typischen Stäbchen spricht und auf das makroskopische Aussehen der „gut entwickelten Culturen" allzu viel Gewicht zu legen scheint, so ist ein Zweifel erlaubt, ob der Verfasser immer den echten Diphtheriebacillus vor Augen gehabt hat. Ferner erfahren wir von E. Müller (8), welcher systematisch sämmtliche Kinder, die auf die Kinderabtheilung der Heubner'schen Klinik, gleichviel aus welcher Krankheitsursache, aufgenommen wurden, auf die Anwesenheit von Diphtheriebacillen in der Mundhöhle untersuchte, dass sich unter 100 Kindern 24 befanden, bei denen Diphtheriebacillen nachgewiesen werden konnten, ohne dass irgend welche Veränderungen der Mund- und Rachenschleimhaut vorhanden gewesen wären. Da aber E. Müller eine andere Methodik anwendet, Agarplatten mit der Begründung zur Untersuchung heranzieht, dass die Serumcultur nicht genügend eindeutige Resultate gebe, und nun mit Hülfe dieser Methode einen besonders hohen Procentsatz findet, so werden wir auch dieser Angabe mit einer gewissen Reserve gegenüberstehen. Slawyk (9) berichtet ferner über 4 Fälle, in denen bei der Ocularinspection keine Veränderungen der Rachenschleimhaut beobachtet werden konnten. In allen 4 Fällen konnte Verfasser Diphtheriebacillen nachweisen. Steen-



meyer (61) endlich fand bei seinen Untersuchungen in der Stadt Rotterdam in 7 Procent der untersuchten Fälle Diphtheriebacillen auf der normalen Schleimhaut des Pharynx. Auch diese Arbeit erfordert eine vorsichtige Beurtheilung, da der Verfasser zur Unterscheidung zwischen Diphtheriebacillen und Pseudodiphtheriebacillen hauptsächlich das Behring'sche Heilserum benützt, während er im Uebrigen mehr Gewicht auf das makroskopische Aussehen der Culturen, weniger Werth indessen auf eine gründliche mikroskopische Untersuchung legt.

b) Vorkommen von Diphtheriebacillen bei scheinbar gesunden Menschen in der Umgebung Diphtheriekranker.

Finden sich, wie aus den oben angeführten Litteraturangaben hervorgeht, Diphtheriebacillen schon in so ausgebreiteter Weise in der Mundhöhle von Personen, die ausser jedem nachweisbaren Contact mit Diphtheriekranken stehen, um wie viel mehr muss dies der Fall sein bei solchen Personen, welche sich in der Umgebung von Kranken aufhalten. So berichtet Feer (10), dass er von 3 Kindern, welche in einem Krankensaale neben 3 an Diphtherie erkrankten Kindern lagen, bei einem Kinde auf der normalen Schleimhaut Diphtheriebacillen gefunden habe. Ritter (11) untersuchte 18 gesunde Mütter und Wärterinnen, welche diphtheriekranke Kinder pflegten, und fand bei zweien Diphtheriebacillen. Von Fibiger (5) erfahren wir, dass sich bei Gelegenheit einer Epidemie im Blegdamhospital unter 53 Functionären, die weder an Diphtherie litten, noch vorher daran gelitten hatten, 3 befanden, welche Diphtheriebacillen in ihrem Munde beherbergten. Hallok Park und Alfred L. Beebe (3) fanden bei schlecht oder unzureichend isolirten Geschwistern von diphtheriekranken Kindern in 50 Procent Diphtheriebacillen. Ferner berichten Washbourn und Hopwood (12), dass sie von 6 anscheinend gesunden Wärterinnen, welche im Diphtheriesaale beschäftigt waren, bei zweien Diphtheriebacillen nachweisen konnten. Carstens (36) fand bei einem gesunden Kinde, dessen zwei Geschwister an Diphtherie erkrankt waren, am 5. Tage Diphtheriebacillen, nachdem seine Untersuchungen in den ersten 4 Tagen negativ ausgefallen waren. Aaser (13) in Christiania untersuchte bei Gelegenheit einer kleinen Epidemie, welche in einer Cavalleriecaserne ausbrach, sämmtliche Insassen auf die Anwesenheit von Diphtheriebacillen in der Mundhöhle und fand unter 89 Personen, die zwar keine subjectiven Beschwerden hatten, dagegen eine starke Röthung des Halses darboten, in 17 Fällen Diphtheriebacillen. Ferner untersuchte derselbe Autor sämmtliche Kinder des Scharlachpavillons D, in welchem durch Infection von einem, mit einem diphtherischen Nasenleiden behafteten Kinde ein Reconvalescent an Diph-

therie erkrankte. Die Untersuchung ergab, dass in 20 Procent der Fälle Diphtheriebacillen nachgewiesen werden konnten. Drei von diesen erkrankten später an Diphtherie, die übrigen blieben gesund und klagten speciell nicht über Halsschmerzen. — Endlich wurden sämmtliche Kinder des Scharlachpavillons B, 29 an der Zahl, untersucht, und konnten auch hier in 9 Fällen Diphtheriebacillen nachgewiesen werden. Die Kinder zeigten zwar keine Krankheitssymptome, indessen konnte man auch hier eine abnorme Röthung der Rachenschleimhaut constatiren. Statistisch verwerthbar für meinen Zweck ist lediglich das Ergebniss der Untersuchung des Scharlachpavillons D, da in allen übrigen Fällen, wenn auch keine Krankheitserscheinungen, so doch eine abnorme Beschaffenheit der Rachenschleimhaut beobachtet worden ist. Williams (14) konnte bei einer, aus 6 gesunden Mitgliedern bestehenden Familie, in welcher ein Fall von Diphtherie vorgekommen war, bei zwei Individuen Diphtheriebacillen nachweisen, ohne dass irgend ein Zeichen einer Erkrankung am Tage der Untersuchung zu beobachten gewesen wäre. S. J. Glücksmann (15) fand bei einem Knaben, welcher neben einem an Diphtherie erkrankten Kinde lag, 12 Tage hindurch Diphtheriebacillen, ohne dass Krankheitssymptome zu Tage traten. Fibiger (16) endlich untersuchte, nachdem auf dem Gymnasium zu Herlufsholm zu wiederholten Malen Diphtherieerkrankungen vorgekommen waren, sämmtliche Schüler des Gymnasiums und konnte unter 134 anscheinend gesunden Schülern in 10 Fällen Diphtheriebacillen nachweisen. Die Untersuchungen Fibiger's wird man indessen mit grosser Vorsicht aufnehmen dürfen, wenn der Verfasser selbst zugiebt, dass eine Verwechselung mit Pseudodiphtheriebacillen möglich sei, und wenn er sagt, „dass es bei Weitem noch nicht entschieden ist, ob nicht die Pseudodiphtheriebacillen in den meisten Fällen abgeschwächte Diphtheriebacillen sind". Thure Hollström (60) untersuchte, nachdem bei der Braut eines Gardisten Diphtherie constatirt worden war und bei diesem selbst sich Diphtheriebacillen nachweisen liessen, sämmtliche 786 gesunde Gardisten und konnte bei 151, also in 19·2 Procent, Diphtheriebacillen vorfinden. Indessen weist der Verfasser selbst auf die Schwierigkeit einer gründlichen und umfassenden bakteriologischen Untersuchung hin. Im Gegensatz zu den bisher erwähnten Autoren fand Beck (2) bei 66 gesunden Kindern den Diphtheriebacillus in keinem einzigen Falle und Johannes Fibiger (5), welcher 82 gesunde Individuen, welche einer Ansteckung nicht ausgesetzt waren, untersuchte, gelangte zu dem gleichen Resultate wie Beck.

Ueberblicken wir diese Litteraturangaben noch einmal, so ergiebt eine Zusammenstellung aus den angeführten Zahlen, dass das Vorkommen von Diphtheriebacillen in der Mundhöhle gesunder Menschen, die mit Diph-

theriekranken scheinbar nicht in Berührung gekommen sind, in 7 Procent der oben angeführten Fälle constatirt worden ist, während sich bei Personen, welche sich in der Umgebung von Kranken aufgehalten haben, Diphtheriebacillen sogar in 18·8 Procent der angeführten Fälle nachweisen liessen. Schanz (17) berichtet sogar, dass die Erreger der Diphtherie, bezw. Varietäten derselben, der sogenannte Pseudodiphtherie- und der Xerosebacillus so verbreitet seien, dass sie sich in der Mundhöhle, auf der Bindehaut eines jeden zweiten Menschen vorfinden, eine Behauptung, mit der Schanz um weit mehr als das Doppelte unseren, aus der übrigen Litteratur gewonnenen Procentsatz übertrifft.

Bei der Unsicherheit mit welcher viele Diphtherieuntersucher die Gruppen des Pseudodiphtherie und des Xerosebacillus von dem eigentlichen Diphtheriebacillus abtrennen, und bei der Auffassung, welche sie über die Selbstständigkeit dieser Arten haben, erschien es nothwendig, mit Hülfe der neueren verbesserten Methoden zur Züchtung und Unterscheidung des Diphtheriebacillus die Frage von Neuem aufzunehmen und die Versuche der oben angeführten Autoren von dieser neuen Basis aus zu wiederholen. Meine Aufgabe erstreckte sich zunächst darauf, die Verbreitungsweise des Diphtheriebacillus in der Mundhöhle solcher gesunder Menschen zu studiren, welche sich in der Umgebung von Kranken aufgehalten haben; zweitens war zu ermitteln, inwieweit der Diphtheriebacillus bei gesunden Menschen verbreitet ist, die ausser jedem nachweisbaren Contact mit Diphtheriekranken stehen.

Methodik der eigenen Untersuchungen.

Meine Untersuchungen habe ich angestellt in der Untersuchungsstation des hygienischen Institutes für diphtherieverdächtiges Material, welche seit ca. $2^1/_2$ Jahren die unentgeltliche Untersuchung der von den Aerzten eingesandten Probeentnahmen besorgt. War in einem Falle von Seiten des Institutes die Diagnose auf Diphtherie gestellt, dann setzte ich mich mit der Familie in Verbindung und machte dort bei sämmtlichen Familienmitgliedern Probeentnahmen. War letzteres aus äusseren Gründen nicht angängig, so wurde ich hinsichtlich der Probeentnahmen von Seiten der Herren Aerzte in liebenswürdigster Weise unterstützt, wofür ich ihnen auch auf diesem Wege meinen besten Dank ausspreche. Dieselben waren auch so freundlich, mir einige kleine Notizen über den örtlichen Befund und das klinische Verhalten der Untersuchten zukommen zu lassen. Die bakteriologische Untersuchung erfolgte in der im hiesigen Institute unter Leitung des Hrn. Professor Flügge ausgebildeten Weise, so zwar, dass zunächst mit dem von der Rachenschleimhaut oder den Mandeln vermittelst



eines an einer Stahlsonde befestigten Wattetampons entnommenen Schleim eine Serumplatte (Löffler) bestrichen wurde.

Sodann wurde nach 6 Stunden die erste mikroskopische Untersuchung vorgenommen. Dieses 6stündige Klatschpräparat erweist sich in den meisten Fällen von echter Diphtherie als ein sehr werthvolles diagnostisches Hülfsmittel. Denn gerade um diese Zeit, wo der Diphtheriebacillus auf dem als fast specifisch von den meisten Autoren anerkannten Nährboden gegenüber den anderen Bakterien das Terrain noch beherrscht, kann man ihn am leichtesten von anderen ihm ähnlichen Bacillen unterscheiden. Und er beherrscht gerade in diesem jungen Stadium das Terrain, weil er, wie M. Neisser (18) mit Recht besonders hervorhebt, um diese Zeit seine grösste Wachsthumsenergie entfaltet. Er erscheint um diese Zeit als schlanker, gewöhnlich an einem Ende zugespitzter, also keilförmig erscheinender, sehr häufig leicht gekrümmter Bacillus in eigenartiger Anordnung: „mittelgrosse, lose Haufen, in denen die Bacillen in charakteristisch unregelmässiger Anordnung liegen, ein Bild, das man sich etwa vergegenwärtigen kann, wenn man die gespreizten Finger der einen Hand in verschiedenen Combinationen über oder neben die der anderen legt.“ Die dem Diphtheriebacillus ähnlichen Bacillen dagegen erscheinen in dem 6stündigen Klatschpräparat stets als kürzere gedrungene Stäbchen, welche von dem Diphtheriebacillus verhältnissmässig leicht zu unterscheiden sind. Ausserdem lassen sie die typische Lagerung, wie sie dem Diphtheriebacillus eigen ist, vermissen. Die Xerosegruppe endlich zeigt um diese Zeit gewöhnlich noch gar kein Wachsthum, höchstens sieht man hier und da einige plumpe Bacillen.

Die so nach 6 Stunden bereits gestellte Diagnose „Diphtherie“ wurde nach frühestens 9, gewöhnlich nach 14 bis 18 Stunden durch die M. Neisser'sche Doppelfärbung ergänzt. Diese Doppelfärbung erweist sich nicht nur den den Diphtheriebacillen ähnlichen, sogenannten Pseudodyphtheriebacillen, sondern auch den übrigen stäbchenförmigen Bakterien gegenüber als ein sehr werthvolles differentialdiagnostisches Hülfsmittel. Denn während die Pseudodiphtheriebacillen die Neisser'sche Doppelfärbung entweder gar nicht, oder in einer für die im hiesigen Institute gehandhabte bakteriologische Diagnose der Diphtherie nicht in Betracht kommenden Zeit annehmen, lassen sich die übrigen stäbchenförmigen Bakterien, welche sich nach der Neisser'schen Methode innerhalb der angegebenen Zeit färben, durch die Form der gefärbten „Körnchen“ von dem Diphtheriebacillus unterscheiden: Während bei letzterem die Körnchen oval sind und einen grösseren Breitendurchmesser zeigen als das braungefärbte Stäbchen, sind sie bei den übrigen stäbchenförmigen Bakterien kreisrund und ragen nicht über den Breitendurchmesser des Stäbchens hinaus. Diese

Doppelfärbung ist übrigens von verschiedenen Autoren, wie C. Fränkel (20), Uhthoff (21), Axenfeld (22), Heinersdorff (23), Kurth (24) geprüft und bestätigt worden.

Als drittes, nur dem Diphtheriebacillus anhaftendes Characteristicum ist seine Säurebildung zu nennen. Roux und Yersin waren, wie Escherich berichtet, die Ersten, welche auf diese Eigenschaft des Diphtheriebacillus aufmerksam gemacht haben. Unter den vielen anderen Autoren, welche sich mit der Nachprüfung der Roux' und Yersin'schen Angaben beschäftigt haben, möchte ich als sorgfältigsten Diphtherieuntersucher Escherich (25) erwähnen. Dieser Autor bestätigt die von Roux und Yersin gemachten Beobachtungen, fand indessen bei seinen Untersuchungen, dass die Säurebildung sich über einen viel grösseren Zeitraum erstreckt, als dies Roux und Yersin beobachtet hatten. So fand Escherich, dass der Rückschlag der gesäuerten Bouillon zur Alkalescenz bei den meisten seiner Culturen erst nach 3 bis 4 Monaten eintrat. Auch ich hatte Gelegenheit, gemeinsam mit Hrn. Dr. v. Brunn einige Culturen nach 23 Tagen auf ihre Acidität zu prüfen und fand, dass sie fast noch einmal so viel Säure gebildet hatten, als nach 24 Stunden. Ich habe diese Culturen auf ihre Säurebildung dann nicht weiter verfolgt. Auch durch diese Eigenschaft der Säurebildung unterscheidet sich der Diphtheriebacillus von den sogenannten Pseudodiphtheriebacillen, welche entweder gar keine Säurebildung zeigen oder geringere Säuremengen produciren als gleichalterige Diphtherieculturen. Der Diphtheriebacillus dagegen zeigt bereits nach 24 Stunden eine ganz erhebliche Säurebildung, die, wie oben erwähnt, in sehr vielen Fällen von Tag zu Tag noch zunimmt. In anderen Fällen tritt jedoch bereits am 3. Tage der Rückschlag in die alkalische Reaction wieder ein. Es kann somit in zweifelhaften Fällen durch Herauszüchtung der Reincultur und vergleichend-quantitative Prüfung der Säurebildung die bakteriologische Diagnose gestützt werden.

Als viertes differentialdiagnostisches Merkmal kommt endlich für den Diphtheriebacillus seine Pathogenität Meerschweinchen gegenüber in Betracht. Es ist bekannt, dass die sogenannten Pseudodiphtheriebacillen jedenfalls nicht thierpathogen sind. Indessen habe ich bei meinen Untersuchungen, wie wir später sehen werden, auch Diphtheriebacillen gefunden, welche keine Thierpathogenität erkennen lassen. Diesen Befund finden wir in der Litteratur zur Genüge bestätigt. Löffler (26) zwar charakterisirte die Virulenz des von ihm entdeckten Bacillus in der Weise, dass er sagte: „Meerschweinchen, welchen eine geringe Menge einer 24stündigen Diphtheriecultur subcutan beigebracht ist, sterben ausnahmslos nach 2 bis 3 Tagen.“ Jedoch schon ein halbes Jahr später machte v. Hofmann (27) bei seinen Versuchen über die Thierpathogenität des Diphtheriebacillus

auf die Virulenzschwankungen desselben aufmerksam. Er fand, dass von 7 Diphtheriecultnren, welche er auf ihre Virulenz hin prüfte, eine überhaupt nicht thierpathogen war. Durch die 6 übrigen Culturen wurden junge Thiere zwar sehr rasch getödtet, ältere Thiere jedoch starben trotz hoher Dosen erst nach 5 und mehreren Tagen. Andererseits haben Roux und Yersin (28), Zarniko (29), d'Espine und Marignac die von v. Hofmann beobachteten Virulenzschwankungen nicht bestätigen können, und erst durch Brieger und Fränkel (31) finden wir wiederum darauf hingewiesen, dass der Diphtheriebacillus seiner Pathogenität Meerschweinchen gegenüber auch entbehren könne. Die beiden Autoren fanden, „dass die Virulenz des Diphtheriebacillus von Haus aus keine feststehende Grösse ist," und hatten Gelegenheit, zu beobachten, dass die Thiere, denen gleiche Mengen einer Diphtheriecultur subcutan injicirt wurden, nach 24, 36 Stunden, aber auch nach 5, 6 und mehreren Tagen starben. Escherich (25) weist gleichfalls darauf hin, dass er bei seinen Versuchen eine Cultur gefunden habe, die absolut nicht thierpathogen war. Weiter erwähnt Abott (32), dass er in einem Falle einen schwach virulenten Diphtheriebacillus gefunden habe. Nach Wright (33) „kommt der Diphtheriebacillus in den verschiedensten Graden der Virulenz, ja ganz avirulent vor." Park und Beebe (3) fanden bei ihren an 330 Gesunden angestellten Untersuchungen Diphtheriebacillen, welche jeglicher Virulenz entbehrten. Washbourn und Hopwood (2) entdeckten bei einer Person kurze, nicht virulente Diphtheriebacillen. Von Gladin (52) erfahren wir, dass er von 20 Reconvalescenten bei 4 Individuen virulente, bei 5 avirulente Diphtheriebacillen vorgefunden habe. E. Müller (8) endlich prüfte 12 Culturen von Diphtheriebacillen auf ihre Thierpathogenität und fand, dass in 6 Fällen die Thiere bei einer Dosis von 0·5, bezw. 1·0 einer 2 tägigen Cultur in typischer Weise starben, in den übrigen Fällen starben die Thiere nach einer Dosis von 0·5 nicht, bekamen aber charakteristische Infiltrationen an der Injectionsstelle.

Alle diese Litteraturangaben charakterisiren in der That die Virulenz als etwas sehr inconstantes. Und so wird man berechtigt sein, die Thierpathogenität nur innerhalb gewisser Grenzen als ausschlaggebend für die Diphtheriediagnose anzusehen. Im positiven Sinne entscheidend ist der Thierversuch nur, wenn das mit der richtigen Menge geimpfte Thier in der bestimmten Zeit und unter den charakteristischen Erscheinungen stirbt. Der negative Thierversuch aber lässt einen directen Schluss für die Diagnose nicht zu.

Lfd. Nr.	1 Namen der Untersuchten	2 Oertlicher Befund	3 Klinisches Verhalten	4 Sechsstündiges Klatschpräparat	5 Doppelfärbung nach 14—18 Std.	6 Reincultur	7 Säuretitrirung mit $^1/_{10}$ NaOH. Indicator: Phenolphthaleïn ccm	8 Thierpathogenität. Geimpft wurde stets am Bäcken des Thieres	9 Sectionsbefund	10 Dauer des Persistirens der Diphth.-Bacillen in d. Mundhöhle
1	Frau Heintze, Mutter ihres an Diphtherie erkrankten Kindes	Leichte Angina.	Keine Krankheitserscheinungen.	Typische Diphtheriebacillen.	Typisch.	Typisch.	24 Std. alt {Controle 1·1, Cultur 1·9; 48 Std. alt {Controle 1·1, Cultur 2·3	† nach 40 Stunden	Starkes Oedem am ganzen Bauch. Nebennieren geschwollen und stark cyanotisch. Die Reinzüchtung des Diphtheriebacillus v. der Impfstelle gelang.	Es wurden Diphtheriebacillen nicht mehr gefunden: nach 12 Tg.
2	Fritz Kopzek; auf demselben Flur wohnt Fam. Heintze. Ausserdem in der darunter befindl. Etage Diphtherie.	„	„	Zieml. viel typische Diphtheriebacillen.	„	„	24 Std. alt {Controle 1·1, Cultur 2·1; 48 Std. alt {Controle 1·1, Cultur 2·7	† nach 30 Stunden	Sehr starkes sulziges Oedem an der ganzen Bauchseite. Nebennieren sehr stark cyanotisch. Geringes Pleuraexsudat. Reincultur von der Impfstelle.	Nach 11 Tagen.
3	Kind Unsner. Hausepidemie in einem hiesigen Hospital.	Normal.	Gesund (immunisirt).	Typische Diphtheriebacillen.	„	„	24 Std alt {Controle 1·1, Cultur 1·9; 48 Std. alt {Controle 1·1, Cultur 2·1	„	Geringes Oedem an der Impfstelle. Sehr starkes sulziges, gallertig. Oedem am ganzen Bauch. Nebennieren stark cyanotisch. Mässiges Pleuraexsudat. Reincultur von der Impfstelle.	Nach 25 Tagen.
4	**Kind Langer. Hausepidemie in einem hiesigen Hospital.**	„	„	„	„	„	24 Std. alt {Controle 1·1, Cultur 1·9; 48 Std. alt {Controle 1·1, Cultur 2·1	„	Sehr starkes Oedem am ganzen Bauch. Nebennieren stark cyanotisch. Geringes Pleuraexsudat. Reincultur von der Impfstelle.	Nach 12 Tagen.



Lfd. Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Namen der Untersuchten	Oertlicher Befund	Klinisches Verhalten	Sechsstündiges Klatschpräparat	Doppelfärbung nach 14—18 Std.	Reincultur	Säuretitrirung mit $^1/_{10}$ NaOH. Indicator: Phenolphthaleïn ccm	Thierpathogenität	Sectionsbefund	Dauer des Persistirens der Diphth.-Bacillen in d. Mundhöhle
5	Kind Kühn, Hausepidemie in einem hiesigen Hospital.	Leichte Angina.	Von Seiten der Halsorgane keine Krankheitserschein. (immunis.)	Reichlich typische Diphtheriebacillen.	Typisch.	Typisch.	24 Std. alt {Controle 1·1, Cultur 1·7} 48 Std. alt {Controle 1·1, Cultur 2·3}	† nach 36 Stunden	Sehr starkes Oedem an der Impfstelle und an der ganzen Bauchseite. Nebennieren stark cyanotisch. Zieml. reichl. Pleuraexsudat. Reincultur wurde von der Impfstelle isolirt.	Nach 28 Tagen.
6	Kind Tietz, Hausepidemie in einem hiesigen Hospital.	Normal.	Gesund (immunis.)	Zieml. viel typische Diphtheriebacillen.	„	„	24 Std. alt {Controle 1·1, Cultur 1·9} 48 Std. alt {Controle 1·1, Cultur 2·2}	† nach 48 Stunden	Sehr starkes Oedem am ganzen Bauch. Nebennieren stark cyanotisch. Sehr reichliches Pleuraexsudat. Reincultur von der Impfstelle.	Nach 21 Tagen.
7	Frau Bluhm, Mutter ihres an Diphtherie erkrankten Kindes.	Leichte Angina.	Keine Krankheitserscheinungen.	Typische Diphtheriebacillen.	„	„	24 Std. alt {Controle 1·1, Cultur 1·8} 48 Std. alt {Controle 1·1, Cultur 2·6}	† nach 36 Stunden	Brettharte Infiltration an der Impfstelle. Sehr starkes sulziges Oedem am ganzen Bauch. Nebennieren stark cyanotisch. Geringes Pleuraexsudat. Reincultur von der Impfstelle.	Nach 13 Tagen.
8	Fritz Kabath, Bruder eines an Diphtherie erkrankten Kindes.	Normal.	„	Zieml. viel typische Diphtheriebacillen.	„	„	24 Std. alt {Controle 1·1, Cultur 1·9} 48 Std. alt {Controle 1·1, Cultur 2·3}	† nach 30 Stunden	Sehr starkes gallertiges Oedem am ganzen Bauch. Nebennieren sehr stark cyanotisch. Reichliches Pleuraexsudat. Reincultur von der Impfstelle.	Nach 5 Tg. positiver Befund, am 6. Tage Erkrankung an Diphtherie.



Lfd. Nr.	1 Name der Untersuchten	2 Oertlicher Befund	3 Klinisches Verhalten	4 Sechsstündiges Klatschpräparat	5 Doppelfärbung nach 14—18 Std.	6 Reincultur	7 Säuretitrirung mit $^1/_{10}$ NaOH. Indicator: Phenolphthaleïn ccm	8 Thierpathogenität	9 Sectionsbefund	10 Dauer des Persistirens der Diphth.-Bacillen in d. Mundhöhle
9	Marie Nutsch, Schwester eines an Diphtherie erkrankten Kindes.	Normal.	Gesund.	Viel typische Diphtheriebacillen.	Typisch.	Typisch.	24 Std. alt {Control. 1·1, Cultur 1·9 48 Std. alt {Control. 1·1, Cultur 2·4	† nach $3^1/_2$ Tagen.	Starkes Oedem am ganzen Bauch. Nebennieren stark cyanotisch. Reincultur von der Impfstelle.	Diphtheriebacillen nicht mehr gefunden: Nach 8 Tagen
10	Gertrud Nutsch. Schwester der Vorigen.	„	„	Typische Diphtheriebacillen.	„	„	24 Std. alt {Control. 1·1, Cultur 1·9 48 Std. alt {Control. 1·1, Cultur 2·6	† nach 48 Stunden.	Sehr starke harte Infiltration an der Impfstelle. Sulziges Oedem a. ganzen Bauch. Nebennieren cyanotisch. Ziemlich reichliches Pleuraexsudat. Reincultur von der Impfstelle.	„
11	Frau Reykowsky, Mutter ihres an Diphtherie erkrankten Kindes.	„	„	Ziemlich viel typische Diphtheriebacillen.	„	„	24 Std. alt {Control. 1·1, Cultur 2·0 48 Std. alt {Control. 1·1, Cultur 2·4	† nach 4 Tagen.	Starkes Oedem an der Impfstelle und an der ganzen Bauchseite. Nebennieren cyanotisch. Geringes Pleuraexsudat. Reincultur von der Impfstelle.	Nach 4 Tagen.
12	Stefan Reykowsky, Bruder des an Diphtherie erkrankten Kindes.	„	„	Sehr viel typische Diphtheriebacillen.	„	„	24 Std. alt {Control. 1·1, Cultur 1·9 48 Std. alt {Control. 1·1, Cultur 2·2	† nach 36 Stunden.	Sehr starkes sulziges Oedem am ganzen Bauch. Nebennieren stark cyanotisch. Reichliches Pleuraexsudat; Reincultur von der Impfstelle.	Nach 6 Tagen.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Lfd. Nr.	Name der Untersuchten	Oertlicher Befund	Klinisches Verhalten	Sechsstündiges Klatschpräparat	Doppelfärbung nach 14—18 Std.	Reincultur	Säuretitrirung mit $^1/_{10}$ NaOH. Indicator: Phenolphthaleïn ccm	Thierpathogenität	Sectionsbefund	Dauer des Persistirens der Diphth.-Bacillen in d. Mundhöhle
13	Hedwig Nutsch, Schwester der oben erwähnt. M. und G. Nutsch.	Leichte Angina.	Keine Krankheitserscheinungen.	Viel typische Diphtheriebacillen.	Typisch.	Typisch.	24 Std. alt {Control 1·1, Cultur 2·0; 48 Std. alt {Control. 1·1, Cultur 2·4	† nach 48 Stunden.	Starkes Oedem an der Impfstelle und an der ganzen Bauchseite. Nebennieren stark cyanotisch. Geringes Pleuraexsudat. Reincultur von der Impfstelle.	Nach 20 Tagen.
14	Dienstmädch. bei Frau Reykowsky.	Normal.	Gesund.	Typische Diphtheriebacillen.	„	„	24 Std. alt {Control. 1·1, Cultur 1·9; 48 Std. alt {Control. 1·1, Cultur 2·2	† nach 5 Tagen.	Geringe Infiltration an der Impfstelle, starke am ganzen Bauch. Nebennieren cyanotisch. Geringes Pleuraexsudat. Reincultur von der Impfstelle.	Nach 4 Tagen.
15	Anna Lath, Schwester eines an Diphtherie erkrankten Kindes.	„	„	Ziemlich viel typische Diphtheriebacillen.	„	„	24 Std. alt {Control. 1·1, Cultur 1·8; 48 Std. alt {Control. 1·1, Cultur 2·3	† nach 40 Stunden.	Sehr starkes sulziges Oedem an der ganzen Bauchseite. Nebennieren stark cyanotisch. Reichliches Pleuraexsudat. Reincultur von der Impfstelle.	Nach 6 Tagen.

Vorkommen von Diphtheriebacillen bei Personen in der Umgebung von Kranken.

Mit Zugrundelegung dieser Kriterien stellte ich meine Untersuchungen an. Untersucht wurden im Ganzen 128 Personen, welche sich in der Umgebung von Kranken aufgehalten hatten. Unter diesen 128 Individuen befanden sich 15, bei denen sich Diphtheriebacillen nachweisen liessen. Diese 15 Personen wurden jeden zweiten Tag so lange untersucht, bis die bakteriologische Untersuchung 2 Mal hinter einander ein negatives Resultat ergab. Von sämmtlichen 15 Fällen wurden Reinculturen vermittelst Agarplatten isolirt und auf die oben erwähnten Characteristica hin geprüft. Es zeigte sich bei dieser Versuchsreihe, dass sie alle in deutlichster Weise zutrafen. Zur leichteren Uebersicht habe ich die näheren Daten über diese 15 Fälle in vorstehender Tabelle kurz zusammengefasst.

Kurze Uebersicht der beigegebenen Tabelle.

a) Infectionsmöglichkeit in der Umgebung eines Diphtheriekranken.

Ueberblicken wir diese Tabelle, so finden wir zunächst, dass diejenigen Personen am meisten der Infection ausgesetzt sind, welche sich in der unmittelbarsten Nähe und Umgebung des Kranken aufhalten, also Mütter, Geschwister und Dienstboten, denen in sehr vielen Fällen die Pflege und Bedienung des erkrankten Kindes obliegt. Von diesen exponirten Personen sind wiederum die jüngsten Individuen, die Geschwister, für eine Infection am meisten empfänglich. Die Väter hingegen, die sich tagsüber zum grossen Theil ausserhalb ihrer Wohnung aufhalten und welche mit den oben angeführten Beschäftigungen für gewöhnlich nicht betraut werden und die sich an und für sich mit Kindern nicht so viel beschäftigen wie die Mütter, zeigten stets negativen bakteriologischen Befund.

b) Diphtherische Angina.

Ferner finden wir unter Colonne II der Tabelle unter den 15 Fällen bei 5 Individuen eine leichte Angina trotz Fehlens jeglicher wesentlicher subjectiver Krankheitserscheinungen. Dass man derartige leichte Halsentzündungen unter gewöhnlichen Verhältnissen nicht als Diphtherie diagnosticiren würde, liegt auf der Hand. In der Umgebung eines an Diphtherie erkrankten Menschen dagegen ist jede Angina mit oder ohne wesentliche Krankheitserscheinungen als diphtherieverdächtig zu betrachten. Ein nach dieser Richtung aus den Protocollen der Diphtherie-Station zu Breslau



gemachter Auszug ergiebt, dass sich unter 139 Personen, welche sich in der Umgebung von Diphtheriekranken befanden und bei denen klinisch leichte Angina diagnosticirt worden war, 97 befanden, bei denen Diphtheriebacillen nachgewiesen werden konnten. Auch in der Litteratur finden sich vielfach Angaben über diphtherische Angina, so von Koplik (34), von Feer (10), welch' Letzterer berichtet, dass er unter 3 Kindern bei zweien leichte Anginen mit positivem bakteriologischen Befund an Diphtheriebacillen gefunden habe. Derselbe Autor berichtet ferner, dass er bei Gelegenheit einer Hausepidemie im Spital in einigen Fällen von Angina ohne Krankheitserscheinungen Diphtheriebacillen nachweisen konnte. Ritter (11) fand bei einer Mutter, welche ihr an Diphtherie erkranktes Kind pflegte, eine starke Röthung des Rachens und bei bakteriologischer Untersuchung Diphtheriebacillen. Landouzy (58) untersuchte 860 Fälle von Angina und fand 364 Mal Diphtheriebacillen. Crocq sen. (62) endlich fand bei 3 von ihm beobachteten Fällen, welche klinisch das Bild der Angina lacunaris darboten, bei der bakteriologischen Untersuchung Diphtheriebacillen.

Dass solche Personen, bei denen Diphtheriebacillen gefunden werden und welche nicht normale Schleimhäute besitzen, zu einer Erkrankung an Diphtherie leichter disponirt sind als vollständig Gesunde, ist ziemlich einleuchtend; indessen erkranken auch Personen mit Diphtheriebacillen im Munde, die vorher absolut keine Krankheitserscheinungen von Seiten der Halsorgane dargeboten haben, acut an Diphtherie. So erkrankte unter meinen Fällen das Kind Fritz Kabath am sechsten Tage der Untersuchung an Diphtherie. Ferner berichtet Mewius (35), dass unter 12 gesunden Personen, welche in einem Diphtheriehause verblieben waren, 9 an Diphtherie erkrankten. Carstens erwähnt von einem gesunden Kinde, das aus einer Diphtheriefamilie stammte, dass er bei demselben am fünften Tage der Untersuchung Diphtheriebacillen gefunden habe. Tags darauf sei das Kind an Diphtherie erkrankt. Es können also zweifellos auch vollständig Gesunde, welche Diphtheriebacillen in ihrem Munde beherbergen, gelegentlich an Diphtherie erkranken. — Immerhin steht die Zahl von Fällen, in denen wir bei vollständig Gesunden Diphtheriebacillen finden, weit zurück hinter der Zahl von Fällen, in welchen wir bei Personen, die über nicht normale Schleimhäute verfügen, Diphtheriebacillen nachweisen können. Während sich nämlich, wie aus den Protocollen der Diphtherie-Station zu Breslau hervorgeht, bei Personen mit nicht normalen Schleimhäuten Diphtheriebacillen in 70 Procent der Fälle nachweisen liessen, wurden in den aus der Litteratur angeführten Fällen bei vollständig Gesunden in 18·8 Procent der untersuchten Personen Diphtheriebacillen gefunden. Ich habe bei meinen Untersuchungen unter



123 Personen mit normalen Schleimhäuten nur 10 Mal, also in 8 Procent der untersuchten Fälle Diphtheriebacillen nachweisen können. Aber selbst diese Zahl genügt, um die Krankheit zu keinem Erlöschen kommen zu lassen. Denn die sich völlig gesund fühlenden und auch als solche imponirenden Menschen wissen ja überhaupt nicht, dass sie einen so gefährlichen Feind bei sich beherbergen und haben deshalb keine Veranlassung, sich im Verkehr mit Anderen Beschränkungen aufzuerlegen. Die Hauptgefahr für die Verbreitung der Diphtherie droht somit von Seiten dieser scheinbar Gesunden, welche mit dem Kranken selbst, mit dessen Ess- und Trinkgeschirren, seinen Spuckgläsern in Berührung kommen, auf diese Weise den Diphtheriebacillus aus erster Hand erhalten und ihn dann weiter transportiren. Zwar sollen nach Zbinden (37) „Fälle von positiv nachgewiesener Uebertragung selten sein“, indessen bedarf es gar nicht einer besonders grossen Zahl solcher Beweise, die in der Praxis naturgemäss schwierig sind und nur unter besonders durchsichtigen Verhältnissen geliefert werden können. Es möge hier genügen, auf die genauere Erörterung des Uebertragungsmodus zu verweisen, welche Flügge in seiner Arbeit „Die Verbreitungsweise der Diphtherie mit specieller Berücksichtigung des Verhaltens der Diphtherie in Breslau“ (63) und C. Fränkel (38) in seinem Vortrag „Die Bekämpfung der Diphtherie“ gegeben haben. Beide kommen zu dem Schluss, „dass der alleinige Erreger und hauptsächlichste Träger des Infectionsstoffes der Mensch sei, der deshalb immer wieder in den Vordergrund trete und unsere Aufmerksamkeit in Anspruch nehme.“

c) Dauer der Existenz und Persistenz des Diphtheriebacillus in der Mundhöhle gesunder Menschen.

Endlich möchte ich noch mit einigen Worten auf die in Colonne 10 meiner Tabelle aufgeführte Dauer des Persistirens der Diphtheriebacillen in der Mundhöhle eingehen. Wir ersehen aus derselben, dass der Diphtheriebacillus, wenn er sich auch hier und da bei einem ganz gesunden Menschen in der Umgebung eines Kranken zu Gaste einstellt, es doch verschmäht, mit vielen anderen Bakterien längere Zeit zusammen zu leben. Es ist in Folge dessen der Diphtheriebacillus in der Mundhöhle gesunder Menschen kein gewöhnlicher Parasit, und dem Umstande, dass die Anwesenheit des Diphtheriebacillus in der Mundhöhle ganz gesunder Menschen eine relativ kurze ist, haben wir es mit zu verdanken, dass der Verbreitung der Diphtherie von dieser Seite gleichfalls ihre Grenzen gesetzt sind. Wo er sich aber einmal findet, da kann er auch in einer den Thieren gegen-



über vollvirulenten Form vorhanden sein. So erwiesen sich dieselben Diphtheriebacillen, welche sich dem in Folge seines Mangels an Disposition geschützten Menschen gegenüber harmlos verhielten, in sämmtlichen 15 Fällen dem Thiere gegenüber als pathogen.

Vorkommen von Diphtheriebacillen an Gegenständen in der Umgebung Diphtheriekranker.

Aus dem Vorhergehenden ersehen wir, dass der Aufenthalt in der unmittelbaren Nähe des Kranken für gesunde Menschen mit erheblicher Infectionsgefahr für dieselben verbunden ist. Auf welchem Wege die Infection hierbei zu Stande kommt, ob durch directes Anhusten und Küssen, oder auf indirectem Wege durch Gebrauch der von dem Kranken benutzten Ess- und Trinkgeschirre, oder durch Berührung der von dem Kranken mit Auswurf beschmutzten Wäschestücke, Möbel u. s. w., lässt sich im einzelnen Fall schwer eruiren. Dass auch die Möglichkeit einer Infection durch Gegenstände vorliegt, geht zur Genüge aus den Litteraturangaben hervor. So konnte Mitscha (57), als in einem Kindergarten in Klosterneuburg eine Epidemie ausbrach, diese auf die gemeinschaftliche Benutzung eines einzigen zur Verfügung stehenden Trinkglases zurückführen. Ebenso gelang es Forbes (65), als Quelle einer Diphtherieepidemie, die in Rochester unter 24 Familien auftrat, die Benützung eines gemeinsamen Trinkgefässes festzustellen, an dessen Rändern er auf bakteriologischem Wege Diphtheriebacillen nachweisen konnte. W. H. Park (66) konnte auf den Kopfkissen und Bettbezügen von Diphtheriekranken durch Züchtung Diphtheriebacillen constatiren. Ferner berichtet C. Fränkel aus Johanessen's (39) „Difteriens forekomst i Norge", dass die Krankheit in eine Papierfabrik durch Lumpen eingeschleppt worden sei, ferner dass ein Lehrer, welcher ein Zimmer bewohnte, in welchem drei Wochen vorher ein Mensch an Diphtherie gestorben war, gleichfalls von dieser Krankheit befallen wurde, dass ferner der Erbe eines Rockes, dessen Besitzer zwei Monate vorher der Krankheit erlegen war, gleichfalls an Diphtherie erkrankte. Schliesslich seien Kinder, welche ein nicht desinficirtes Kissen benutzt hätten, gleichfalls erkrankt. Abel (41) hat an Holzklötzen eines Baukastens, mit denen ein an Diphtherie erkranktes Kind während seiner Krankheit viel gespielt hatte, sechs Monate später vollvirulente Diphtheriebacillen nachweisen können. Wright und Emerson (42) haben im Diphtheriepavillon des Bostoner City-Hospitales den Kehricht des Fussbodens und die zum Reinigen desselben benützten Utensilien auf Diphtheriebacillen untersucht und solche in einer Bürste nachweisen können. Desgleichen fanden sie in dem den Schuhen der Wärterinnen anhaftenden



Staube in drei Fällen Diphtheriebacillen, ferner einmal in den Haaren einer Wärterin, und zwar an der Stelle, welche beim Zurechtstreichen der Haare mit den Fingern für gewöhnlich berührt wird. Die von dem Rande der Kleider, den Betttüchern und Vorhemdchen der Patienten angestellten Versuche ergaben ein negatives Resultat. Ritter (43) fand in 4 Fällen an schimmelbedeckten Wänden vollvirulente Diphtheriebacillen. Immerhin müssen diese Befunde einerseits als glückliche Zufälligkeiten betrachtet werden, andererseits aber namentlich den Ritter'schen Untersuchungen gegenüber zu Zweifel Anlass geben, da man bei der Fülle von stäbchenförmigen Bakterien, die sich an einer schimmelbedeckten Wand befinden können, leicht geneigt sein kann, diese Bakterien, zumal wenn keine eingehende Prüfung mit ihnen vorgenommen wird, als Löffler'sche Bacillen anzusprechen. In ähnlicher Weise wie Ritter untersuchte G. Sharp den Fussboden von Localitäten, in denen Diphtherie mehr oder weniger endemisch war; in einigen Fussböden fand er Bacillen, die morphologisch mit dem Diphtheriebacillus identisch sind. Er hat indessen keine weiteren Beweise für die Identität mit Diphtheriebacillen erbracht, was doch unumgänglich nothwendig gewesen wäre. Reger hat schliesslich Recht, zu sagen, dass die todten Gegenstände bei der Verbreitung der Diphtherie eine nur untergeordnete Rolle spielen. Auch Schlichter (40) untersuchte bei Gelegenheit einer Hausepidemie in der Findelanstalt zu Wien Wände, Zwischenböden und den Staub der Wände und konnte in keinem einzigen Falle Diphtheriebacillen nachweisen. Nichtsdestoweniger sind die Untersuchungen Schlichter's nicht als einwandfrei zu bezeichnen. Denn Schlichter hatte keine bakteriologischen Untersuchungen an Gegenständen angestellt, sondern nur Thiere mit dem Schutt geimpft, welcher sich zwischen den Ritzen der Dielen und unter diesen befand, weil er in jenem Schutt Diphtheriebacillen vermuthet hatte. Auf Grund meiner Untersuchungen kann ich die Angaben von Reger nur bestätigen. Auch ich habe bei meinen nach dieser Richtung hin angestellten Untersuchungen, die ich in 10 inficirten Familien an Betttüchern, Kopfkissen, Bettwänden, Wand- und Fussbodenstaub vorgenommen habe, in keinem einzigen Falle Diphtheriebacillen nachweisen können. Zu gleichen Resultaten war vor mir im hygienischen Institut zu Breslau Hr. Dr. B. Heymann gelangt. Nichtsdestoweniger sind mit grosser Wahrscheinlichkeit Diphtheriebacillen sowohl in der Bett- wie in der Leibwäsche des Erkrankten, ferner wohl auch an Möbeln, im Wand- und Fussbodenstaub gelegentlich vorhanden, speciell wenn Kinder, wie dies oft genug vorkommt, sehr unreinlich sind und alles in ihrer Umgebung Erreichbare mit ihrem Auswurf beschmieren. Das Auffinden dieser Diphtheriebacillen wird jedoch stets von Zufälligkeiten abhängig sein. Für die Verbreitung der Diphtherie



im Allgemeinen spielen indessen die todten Gegenstände, wie schon oben erwähnt, eine untergeordnete Rolle und kommen höchstens bei dem endemischen Charakter der Verbreitung der Diphtherie in Betracht.

Vorkommen von Diphtheriebacillen bei Gesunden.

Nachdem ich mich so über das Vorkommen von Diphtheriebacillen in der Umgebung Kranker orientirt hatte, wollte ich in der Folge das Vorkommen von Diphtheriebacillen in der Mundhöhle ganz gesunder Menschen, die, soweit sich dies überhaupt feststellen lässt, ausser jedem Connex mit Diphtheriekranken stehen, studiren. Dass auch hierüber eine ziemlich umfangreiche Litteratur besteht, ist aus meiner Einleitung ersichtlich. Indessen erschien mir der dort angeführte Procentsatz von 7 Procent für das Vorkommen von Diphtheriebacillen in der Mundhöhle ganz gesunder Menschen, bei denen kein offenbarer Zusammenhang mit Diphtheriekranken besteht, sehr hoch und der Nachprüfung dringend bedürftig. Zum Zweck meiner Untersuchungen wählte ich Schulkinder, und zwar diejenigen, welche den untersten Klassen angehörten, weil diese sich noch in dem für Diphtherie am meisten empfänglichen Alter befinden. Der Gang der Untersuchung war der nämliche, wie bei den aus der Umgebung von Kranken stammenden Fällen. Massgebend für die positive bakteriologische Diagnose war wiederum in erster Linie das sechsstündige Klatschpräparat, sodann die Neisser'sche Doppelfärbung. Zur Ergänzung der Diagnose diente die Isolirung der Reincultur mittels Agarplatten und Prüfung der Cultur auf Säurebildung und Thierpathogenität. Untersucht wurden im Ganzen 600 Kinder, welche auf 14 verschiedene Klassen entfallen. Unter diesen 600 habe ich bei 15 Kindern Diphtheriebacillen nachweisen können, ohne dass ich bei einem von ihnen einen abnormen Rachenbefund hätte erheben oder Krankheitserscheinungen beobachten können. Auch diese 15 Fälle wurden jeden zweiten Tag so lange untersucht, bis die bakteriologische Untersuchung bei zwei hinter einander erfolgten Entnahmen negativ blieb. Die hinsichtlich der erwähnten Criterien auch bei diesen 15 Fällen angestellten Prüfungen fielen bis auf die Virulenz in positivem Sinne aus. Indessen habe ich schon im Anfang auf die Virulenz als eine inconstante Grösse, wie dies ja auch aus der einschlägigen Litteratur hervorgeht, hingewiesen. Im Uebrigen komme ich auf die Ursachen der Avirulenz weiter unten noch ausführlicher zu sprechen. Auch hier habe ich der leichteren Uebersicht halber diese 15 Fälle in einer Tabelle kurz zusammengefasst.



Lfd. Nr.	1 Name der Untersuchten	2 Oertlicher Befund	3 Klinisches Verhalten	4 Sechsstündiges Klatschpräparat	5 Doppelfärbung	6 Reincultur	7 Säuretitrirung mit $^1/_{10}$ NaOH. Indicator: Phenolphthaleïn ccm	8 Thierpathogenität	9 Sectionsbefund	10 Dauer des Persistirens der Diphth.-Bacillen in d. Mundhöhle
1	Kind Brilka.	Normal.	Gesund.	Typische Diphtheriebacillen.	Typisch.	Typisch.	24 Std. alt {Contr. 1·2, Cultur 1·7} 48 Std. alt {Contr. 1·2, Cultur 2·2}	† nach 48 Std.	Starkes Oedem am ganzen Bauch und an der Impfstelle. Stark cyanotische Nebennieren. Geringes Pleuraexsudat. Reincultur von der Impfstelle wurde isolirt.	Diphtheriebacillen wurden nicht mehr gefunden: Nach 8 Tagen.
2	Kind Kohla.	„	„	Viel typische Diphtheriebacillen.	„	„	24 Std. alt {Contr. 1·2, Cultur 1·7} 48 Std. alt {Contr. 1·2, Cultur 2·4}	Thier lebt.		Nach 7 Tagen.
3	Kind Birkner	„	„	Typische Diphtheriebacillen.	„	„	24 Std. alt {Contr. 1·2, Cultur 1·8} 48 Std. alt {Contr. 1·2, Cultur 2·6}	† nach 48 Std.	Brettharte Infiltration an der Impfstelle. Starkes sulziges Oedem am ganzen Bauch. Nebennieren cyanotisch. Mässiges Pleuraexsudat. Reincultur von der Impfstelle.	Nach 9 Tagen.
4	Kind Rother.	„	„	„	„	„	24 Std. alt {Contr. 1·2, Cultur 2·1} 48 Std. alt {Contr. 1·2, Cultur 2·3}	Thier lebt.		Nach 8 Tagen.
5	Kind Stipa.	„	„	Viel typische Diphtheriebacillen.	„	„	24 Std. alt {Contr. 1·2, Cultur 2·1} 48 Std. alt {Contr. 1·2, Cultur 2·5}	„		Nach 7 Tagen.



Lfd. Nr.	1 Name der Untersuchten	2 Oertlicher Befund	3 Klinisches Verhalten	4 Sechsstündiges Klatschpräparat	5 Doppelfärbung	6 Reincultur	7 Säuretitrirung mit $^{1}/_{10}$ NaOH. Indicator: Phenolphthaleïn ccm	8 Thierpathogenität	9 Sectionsbefund	10 Dauer des Persistirens der Diphth.-Bacillen in d. Mundhöhle
6	Kind Kossmann.	Normal.	Gesund.	Sehr viel typische Diphtheriebacillen.	Typisch	Typisch.	24 Std. alt {Contr. 1·2, Cultur 1·9} 48 Std. alt {Contr. 1·2, Cultur 2·4}	Thier lebt.		Nach 6 Tagen.
7	Kind Blacha.	„	„	Typische Diphtheriebacillen.	„	„	24 Std. alt {Contr. 1·2, Cultur 2·1} 48 Std. alt {Contr. 1·2, Cultur 2·6}	„		Nach 5 Tagen.
8	Kind Bartsch.	„	„	„	„	„	24 Std. alt {Contr. 1·2, Cultur 1·8} 48 Std. alt {Contr. 1·2, Cultur 2·3}	„		Nach 4 Tagen.
9	Kind Jonas.	„	„	Sehr viel typische Diphtheriebacillen.	„	„	24 Std. alt {Contr. 1·2, Cultur 2·0} 48 Std. alt {Contr. 1·2, Cultur 2·2}	† nach 30 Std.	Starkes sulziges Oedem am ganzen Bauch. Nebennieren stark cyanotisch. Reichliches Pleuraexsudat. Reincultur von der Impfstelle.	Nach 13 Tagen.
10	Kind Steiner.	„	„	Typische Diphtheriebacillen.	„	„	24 Std. alt {Contr. 1·2, Cultur 1·7} 48 Std. alt {Contr. 1·2, Cultur 2·1}	Thier lebt.		Nach 4 Tagen.



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Lfd. Nr.	Namen der Untersuchten	Oertlicher Befund	Klinisches Verhalten	Sechsstündiges Klatschpräparat	Doppelfärbung	Reincultur	Säuretitrirung mit $^1/_{10}$ NaOH. Indicator: Phenolphthaleïn ccm	Thierpathogenität	Sectionsbefund	Dauer des Persistirens der Diphth.-Bacillen in d. Mundhöhle
11	Kind Heinrich.	Normal.	Gesund.	Typische Diphtherie-bacillen.	Typisch.	Typisch.	24 Std. alt { Contr. 1·2, Cultur 2·0 48 Std. alt { Contr. 1·2, Cultur 2·4	Thier lebt.		Diphtherie-bacillen wurden nicht mehr gefunden: Nach 6 Tg.
12	Kind Gilgenast.	"	"	"	"	"	24 Std. alt { Contr. 1·2, Cultur 1·9 48 Std. alt { Contr. 1·2, Cultur 2·4	† nach 48 Std.	Sehr starkes Oedem am ganzen Bauch. Cyanose der Nebennieren. Geringes Pleuraexsudat. Reincultur von der Impfstelle.	Nach 17 Tagen.
13	Kind Winkler.	"	"	"	"	"	24 Std. alt { Contr. 1·2, Cultur 2·2 48 Std. alt { Contr. 1·2, Cultur 2·6	Thier lebt.		Nach 7 Tagen.
14	Kind Niegisch.	"	"	"	"	"	24 Std. alt { Contr. 1·2, Cultur 2·1 48 Std. alt { Contr. 1·2, Cultur 3·1	† nach 36 Std.	Sehr starkes sulzig-gallertiges Oedem am ganzen Bauch. Nebennieren stark cyanotisch. Reichliches Pleuraexsudat. Reincultur von der Impfstelle.	Nach 5 Tagen.
15	Kind Böhm.	"	"	"	"	"	24 Std. alt { Contr. 1·2, Cultur 1·7 48 Std. alt { Contr. 1·2, Cultur 2·1	Thier lebt.		Nach 9 Tagen.

Virulenzschwankungen und Avirulenz der Diphtheriebacillen bei gesunden Menschen.

Was in dieser Tabelle am meisten auffällt, sind die sehr bedeutenden Virulenzschwankungen. Beschäftigen wir uns zunächst mit der Avirulenz dieser Bacillen dem Menschen gegenüber. Roux und Yersin berichten, dass sie bei ihren Untersuchungen Diphtheriebacillen von um so geringerer Virulenz begegnet wären, je weiter der Beginn der Erkrankung zurückgelegen hätte. Auch Escherich (25) giebt an, dass bei schwer verlaufenden Fällen stets hoch virulente, bei leicht verlaufenden die schwach virulenten Diphtheriebacillen angetroffen würden. Er erklärt sich diese Erscheinung in der Weise, dass er sagt, die virulenten Bacillen gehen allmählich zu Grunde und die schwach virulenten vermehren sich immer mehr auf deren Kosten, so dass schliesslich nur noch abgeschwächte Diphtheriebacillen vorhanden wären. Welches ist nun aber das Agens, welches das Nichterkranken dieser 15 Individuen bedingt? Ebenso wie bei vielen anderen Infectionskrankheiten das Ueberstehen derselben einen längeren oder kürzeren Schutz gegenüber einer abermaligen Erkrankung gewährleistet, ebenso verhält es sich auch bei der Diphtherie; auch hier tritt eine Immunität ein. Die Ursache dieser Immunität sind, wie dies zuerst Klencensiewicz und Escherich (45) bewiesen haben, Schutzkörper im Blute, welche als die eigentlich schützende Kraft gegenüber der durch die Diphtherie bedingten Intoxication anzusprechen sind. Aber nicht nur bei Kranken, bezw. bei Personen, welche diese Krankheit überstanden haben, finden sich diese Schutzkörper, sondern auch in dem Blute vollständig gesunder Menschen hat sich diese Schutzwirkung nachweisen lassen. So fand Abel (46), welcher erwachsene gesunde Personen im Alter von 20 bis 40 Jahren auf die Schutzkraft ihres Serums untersuchte, dass dasselbe sehr wohl im Stande war, Meerschweinchen gegen eine Infection mit Diphtherie zu schützen. Wassermann (47) fand sowohl bei Erwachsenen, als auch bei Kindern, und bei diesen schon im frühesten Kindesalter, dass das Serum eine das Diphtherietoxin zerstörende Eigenschaft besitze, jedoch nicht bei allen Individuen, die dann in Folge Mangels dieser Schutzkörper auch leichter erkranken. Orlowski (48), welcher sowohl Kinder, die eine leichte Diphtherie durchgemacht hatten, als auch ganz gesunde Kinder untersuchte, bestätigt gleichfalls durch seine an Meerschweinchen angestellten Versuche das Vorhandensein eines das Diphtheriegift neutralisirenden oder abschwächenden Schutzkörpers. Dieselben und ähnliche Versuche wurden von J. Loos (53) und F. Passini (54) wiederholt und bestätigt. Wenn somit das Blutserum nicht nur bei Kranken, sondern auch bei vollständig Gesunden derartige Schutzkörper zu bilden im Stande



ist, so können wir uns einerseits das oft lange Zeit andauernde Vorkommen von Diphtheriebacillen in der Mundhöhle von Reconvalescenten, ohne dass dieselben durch diesen gefährlichen Gast weiter belästigt werden, erklären, andererseits geht aus dieser Eigenschaft des Serums hervor, dass vollständig Gesunde, welche zufällig Diphtheriebacillen in ihrem Munde beherbergen, nicht zu erkranken brauchen. Allerdings wird diese Schutzkraft des Serums eine begrenzte sein, die wohl nur so lange ausreichen wird, als sie auch thatsächlich das gebildete Diphtherietoxin zu neutralisiren im Stande ist. Ist dagegen ein Plus von Diphtherietoxin vorhanden, oder entbehrt der Organismus überhaupt seiner Schutzkörper, so ist damit dem Diphtheriebacillus und seiner verheerenden Thätigkeit Thür und Thor geöffnet. Zum Zustandekommen einer Erkrankung gehört indessen nach Escherich ausser dieser allgemeinen Disposition, welche in dem Mangel jener Schutzkörper des Serums besteht, auch noch eine örtliche Disposition. Der Diphtheriebacillus muss bei seinem Einzug in die Mundhöhle ein Terrain vorfinden, das ihm günstige Lebensbedingungen bietet; die Schleimhäute müssen ihrer schützenden Epitheldecke beraubt, es muss sozusagen ein Locus minoris resistentiae vorhanden sein. Erkranken solche Personen, welche über nicht intacte Schleimhäute verfügen, nicht, wie dies bei den oben erwähnten 5 Personen meiner ersten Versuchsreihe der Fall ist, dann ist für dieses Verhalten die Schutzkraft des Serums wohl verantwortlich zu machen. Besitzt der Organismus aber sowohl örtlichen, wie allgemeinen Schutz, dann ist der Diphtheriebacillus in der Mundhöhle eines solchen Menschen für diesen selbst ein harmloser Parasit. Allerdings wäre es, um diese Behauptung beweisen zu können, bei meinen Fällen von grossem Interesse gewesen, das Serum dieser Kinder auf seine antitoxischen Wirkungen hin zu prüfen; indessen war mir diese Untersuchung bei den ohnehin schon bedeutenden Schwierigkeiten, denen ich bei meinen harmlosen „Auspinselungen“ von Seiten der Angehörigen begegnet war, nicht möglich.

Wenn schon ein Beweis für die Ungefährlichkeit des Diphtheriebacillus einzelnen Menschen gegenüber nicht stricte geführt werden kann, so ist es noch viel weniger möglich, die Avirulenz im Thierexperimente zu erklären. Nur so viel steht hinsichtlich der Virulenzprüfung fest, dass die Diphtheriebacillen, welche von einer manifesten Diphtherieerkrankung herstammen, im Allgemeinen thierpathogen sind. In allen übrigen Fällen erweist sich die Thierpathogenität, wie schon oben erwähnt, als etwas inconstantes. Es ist uns in Folge dessen auch unbekannt, ob zwischen der Avirulenz gegenüber dem Menschen und gegenüber dem Versuchsthiere ein Parallelismus besteht. Höchstens könnte man beide in der Weise in Beziehung bringen, dass man sich vorstellt, dass der

menschliche Organismus nicht nur im Stande ist, antitoxische, sondern auch baktericide Stoffe zu erzeugen, die dann entkräftend und vernichtend auf die Bacillen einwirken; und dass die so geschädigten Mikroorganismen dann auch nicht mehr im Stande sein dürften, im Thierkörper Krankheitserscheinungen hervorzurufen.

Invasionsmodus der Diphtheriebacillen bei gesunden Menschen.

Schliesslich wäre noch zu erwägen, auf welchem Wege die Diphtheriebacillen in die Mundhöhle gesunder Menschen hineingelangen. Wie Johannes Fibiger (16) seine 10 als positiv diagnosticirten Fälle auf einen ursprünglichen Erkrankungsherd zurückführen konnte, gelang es auch mir, in den meisten Fällen Beziehungen zwischen Erkrankungen und den von mir diagnosticirten Fällen nachzuweisen. So konnte ich über Fall 1 Folgendes eruiren:

Familie Brilka wohnt Löschstr. Nr. 43. In diesem Hause, wie im Nebenhause traten zur Zeit der Untersuchung viel Masern auf, im Nebenhause auch ein Scharlachfall. Im vorletzten Hause, also im Hause Nr. 39, sollen in den letzten 4 Wochen vor der Untersuchung 2 Diphtheriefälle vorgekommen sein, darunter ein Knabe im Alter von 7 und ein Kind im Alter von 2 Jahren. Dieser Knabe, Namens Peremba (Fall Poremba auf der Diphtheriestation des hygienischen Institutes bakteriologisch untersucht und positiv diagnosticirt am 31. V. 1898), besucht dieselbe Schule in der Paradiesstrasse wie Brilka. Ausserdem befindet sich neben dem Hause Nr. 43 ein grosser Platz, auf welchem sich zum Spielen sehr viele Kinder einzufinden pflegen. Zu diesen gehörten nach Aussage der Angehörigen regelmässig Poremba und Brilka..

Was Fall 2 betrifft, so wohnte die Familie Kohla kurze Zeit vor der Untersuchung Weidenstr. Nr. 3, jetzt Feldstr. Nr. 15c. Nach Angabe mehrerer Einwohner des Hauses Weidenstr. Nr. 3 soll das Kind Kohla 3 oder 4 Wochen krank gewesen sein, und zwar an Diphtherie. Erst später soll das Gerücht von Masern, woran das Kind nach Angabe der Mutter gelitten haben soll, entstanden sein. Es würde sich also in diesem Falle um ein Kind handeln, das eine leichte Diphtherie überstanden hat und nun noch längere Zeit Diphtheriebacillen in seiner Mundhöhle beherbergt, ohne dass die geringsten Veränderungen an den Schleimhäuten wahrzunehmen waren. Da ausserdem das Allgemeinbefinden ein ausgezeichnetes war, so imponirte dieses Kind als ein vollständig gesundes.

Ueber Fall 3 konnte ich eruiren, dass in dem Hause schräg gegenüber 2 Fälle von Diphtherie bei einer Familie Stiller vorgekommen sein



sollen. Von diesen sei das jüngere Kind gestorben. Mit dem anderen Kinde habe Birkner als Spiel- und Alterskamerad viel verkehrt.

Fall 4 wohnt Junkernstr. Nr. 26. Dieses Kind verkehrte mit einem Knaben, Namens Walter Böhm, Junkernstr. Nr. 13 wohnhaft, welcher im Monat April an Diphtherie erkrankt war. (Fall Böhm auf der Diphtheriestation des hygienischen Institutes bakteriologisch untersucht und positiv diagnosticirt am 5. IV. 1898.)

Fall 5 hatte längere Zeit vor der Untersuchung eine Scharlacherkrankung durchgemacht und war im Anschluss daran an einer Mundfäule, wie sich die Mutter des Kindes ausdrückt, erkrankt. Einen näheren Zusammenhang zwischen diesem, zur Zeit der Untersuchung vollständig gesunden Kinde und einem Diphtherieherd gelang mir nicht zu ermitteln. Indessen, wenn man bedenkt, dass der Neumarkt, an welchem die Eltern des Kindes wohnen, der Tummelplatz für viele, sowohl am Neumarkt selbst, als auch in den nach dem Neumarkt zu mündenden Strassen und Gassen wohnenden Kinder darstellt, so wird man in Anbetracht der zahlreichen, in der Kupferschmiedestrasse und Breitestrasse im vorigen Jahre vorgekommenen Diphtherieerkrankungen (vergl. hierzu die Protocolle der Diphtheriestation des hygienischen Institutes!) an einen Zusammenhang mit einem Krankheitsherd denken dürfen.

Bei Fall 6 konnte ich nur feststellen, dass das Kind 14 Tage vor der Untersuchung gehustet und dabei etwas heiser gewesen sein soll. Die bezüglich eines Connexes mit einem Diphtherieherd angestellten Recherchen waren negativ.

Bei Fall 7 liegt der Zusammenhang klar zu Tage, da in demselben Hause, Hummerei Nr. 45, eine Diphtherieerkrankung vorgekommen war. Verkehr der Kinder unter einander wird zugegeben. (Fall Dittrich auf der Diphtheriestation des hygienischen Institutes bakteriologisch untersucht und positiv diagnosticirt am 8. III. 1898.)

Fall 8 wohnt Einhorngasse Nr. 7. Abgesehen davon, dass die Gasse auch zu denjenigen gehört, welche nach dem Neumarkt zu münden, zu dessen eifrigen Besuchern beim Spielen auch das Kind Bartsch gezählt haben soll, kamen nach Angabe der Angehörigen des Kindes in demselben Hause in der höher liegenden Etage Halserkrankungen vor, denen man ohne Hinzuziehung eines Arztes keine weitere Bedeutung beigelegt habe. Ein Verkehr zwischen den Kindern der Familie Bartsch und den in der darüber befindlichen Etage wohnenden habe bestanden.

Ueber Fall 9 konnte ich in Erfahrung bringen, dass dieses Kind eine in der Ziegengasse befindliche Nachmittagsschule besucht, in welcher es neben einem Kinde Schöpe sitzt, das 8 Wochen vor der Untersuchung an Diphtherie erkrankt war. (Fall Schöpe auf der Diphtheriestation des

hygienischen Institutes bakteriologisch untersucht und positiv diagnosticirt am 25. IV. 1898.)

Fall 10 wohnt Ketzerberg Nr. 9. Im Nebenhause wohnt eine Familie Reindel, welche mit der Familie Steiner in freundschaftlicher Weise verkehrt. In der erstgenannten Familie erkrankte Anfang Mai das Kind Agnes Reindel an Diphtherie. (Fall Reindel auf der Diphtheriestation des hygienischen Institutes bakteriologisch untersucht und positiv diagnosticirt am 8. V. 1898.)

Was Fall 11 betrifft, so wohnte Familie Heinrich kurze Zeit vor der Untersuchung Ohlauerstr. Nr. 35, jetzt Ketzerberg Nr. 6. In demselben Hause, Ohlauerstr. Nr. 35, und auf demselben Flur wohnt eine Familie Suchodoll, in welcher 3 Kinder an Diphtherie erkrankt waren. (Fall Suchodoll auf der Diphtheriestation des hygienischen Institutes bakteriologisch untersucht und positiv diagnosticirt am 16. VII. 1898.)

Ebenso einfach verhält sich der Zusammenhang bei Fall 12. Familie Gilgenast wohnt Albrechtstr. Nr. 21. Im Nebenhause erkrankte in der Familie Senftleben das Kind Agnes Senftleben an Diphtherie, welches mit dem Kinde Gilgenast sehr viel verkehrte. (Fall Agnes Senftleben auf der Diphtheriestation des hygienischen Institutes bakteriologisch untersucht und positiv diagnosticirt am 8. III. 1898.)

Bei Fall 13, welcher Schuhbrücke Nr. 46 wohnt, ist gleichfalls ein Zusammenhang mit einem Diphtherieherd vorhanden, indem im Nebenhause ein Kind Ohlisch an Diphtherie erkrankt war, welches mit dem Kinde Winkler beim Spielen öfters zusammengekommen sein soll. (Fall Ohlisch auf der Diphtheriestation des hygienischen Institutes bakteriologisch untersucht und positiv diagnosticirt am 15. VI. 1898.)

Ueber Fall 14 erfuhr ich, dass das Kind Nigisch nach Angabe der Mutter die Gewohnheit habe, alle in der Nähe wohnenden bekannten Familien, in denen sich kleine Kinder befänden, aufzusuchen, um mit diesen zu spielen. Dabei habe es die üble Angewohnheit, unterschiedslos jegliches Kind stets auf den Mund zu küssen. Nun sei 10 Wochen vor der Untersuchung in der Familie Franke, Ziegengasse wohnhaft, ein Kind an Diphtherie gestorben und in einer Familie Vogt hätten noch kürzere Zeit vor der Untersuchung 2 Kinder an Halsentzündung gelitten. In beiden Familien habe Kind Nigisch verkehrt.

Was endlich Fall 15 angeht, so werden von Seiten der Eltern des Kindes ganz unsichere Angaben gemacht. Angeblich sollen in einem Dorfe Würwitz, in welchem sich das Kind über die Ferien zur Erholung aufhielt, in der Familie, in welcher das Kind untergebracht war, 2 Kinder halskrank gewesen sein.

Aus diesen Daten geht hervor, dass jene 15 vollständig gesunden Kinder, welche scheinbar mit Diphtheriekranken nicht in Berührung gekommen sind, unbewusster Weise doch mit Menschen verkehrt hatten, die, wenn sie vielleicht auch keine Krankheitserscheinungen mehr darboten, für ihre Umgebung dennoch insofern gefährlich waren, als sie in ihrem Munde noch Diphtheriebacillen beherbergten. Ebenso nun wie diese ursprünglich Kranken in der Reconvalescenz und oft noch längere Zeit darüber hinaus ihre Umgebung gefährden, genau ebenso gefährlich, ja sogar noch gefährlicher sind vermuthlich diese völlig gesunden und wissentlich nie mit Diphtheriekranken in Berührung gekommenen Menschen, wenn sie Diphtheriebacillen in ihrem Munde besitzen. Wenn diese als gesund imponirenden Bacillenträger vermöge der Schutzkraft ihres Serums und der mangelnden örtlichen Disposition nicht erkranken, so sind sie doch voraussichtlich im Stande, diesen Infectionsstoff auf alle mögliche Weise auf ihre Umgebung zu übertragen. Gelangen dann die Diphtheriebacillen in ein Individuum, dessen Blut jeglicher Schutzkraft entbehrt und dessen Schleimhäute womöglich auch nicht mehr intact sind, dann ist dem Diphtheriebacillus die Bahn geebnet, und dieselben Bacillen, welche sich bei dem einen Individuum vollständig reactionslos verhielten und die sich durch den Thierversuch als avirulent herausstellten, werden möglicher Weise bei einem anderen Individuum virulent und erzeugen gefährliche Krankheitserscheinungen.

Varietäten des Diphtheriebacillus.

Zum Schluss möchte ich noch die Varietäten des Diphtheriebacillus und ihr Verhalten mit einigen Worten berühren. Nach Löffler hat der typische Diphtheriebacillus eine keilförmige Gestalt. Zarniko giebt als Länge und Breite des typischen Diphtheriebacillus 1·2 bis 1·5 μ, bezw. 0·3 μ an. Escherich hinwiederum konnte eine Länge von 2·0 μ und eine Breite von 0·5 μ constatiren. Auch Peters (50), Zupnick (19), C. Fränkel haben bei ihren Untersuchungen verschiedene Grössenverhältnisse beobachten können. Nach Kurth (24) endlich soll der typische Diphtheriebacillus in Reincultur „in Fünferform" 5 Mal so lang als breit, vereinzelt 7 Mal so lang als breit sein. Noch weit zahlreicher als diese Grössen-, sind die Formverhältnisse des Diphtheriebacillus. So unterscheidet Escherich (25) drei nach dieser Richtung hin verschiedene Arten. Zu der ersten Abtheilung dieser Varianten gehören nach ihm „Spindel-, Hantel-, Birn-, Lanzettformen, Kommas oder an Halbmonde, an Kometen erinnernde, kurz eine endlose Zahl verschiedener, zum Theil recht bizarrer Gestalten". In die zweite Abtheilung rechnet er schmale, cylindrische,



den Tuberkelbacillen ähnliche, jedoch doppelt so breit als diese auftretende Formen. Als dritte Gruppe erwähnt er endlich die lang ausgewachsenen, mit Kolbenform versehenen Bacillen. Zu erwähnen sind hier ferner die von C. Fränkel (67), Bernheim und Folger (51), Berestnew (59) und neuerdings von Kurth beschriebenen verzweigten Formen des Diphtheriebacillus. Schliesslich giebt es noch Diphtheriebacillen, welche die Fähigkeit besitzen, einen Farbstoff zu bilden, der oft verschiedene Nüancen erkennen lässt. Während der Diphtheriebacillus für gewöhnlich in Reincultur auf Löffler'schem Rinderserum ein gelb-weissliches Aussehen hat, nimmt er in manchen Fällen, wie dies Zupnik (19) besonders beobachtet hat, auch eine gelbe und selbst eine rothe Farbe an. Endlich wären zu den Varietäten des Diphtheriebacillus noch diejenigen Bacillen zu rechnen, welche die M. Neisser'sche Doppelfärbung nicht annehmen, wie dies C. Fränkel (20) 1 Mal und Kurth (24) 3 Mal zu beobachten Gelegenheit gehabt hat. — Ich habe bei meiner Thätigkeit auf der Diphtheriestation des hygienischen Institutes hier und da gleichfalls diese Grössen-, Form- und Farbenunterschiede beobachten können, niemals dagegen weder bei meinen, noch bei sämmtlichen auf der Diphtheriestation während meiner Anwesenheit untersuchten Fällen, den negativen Ausfall der M. Neisser'schen Färbung (natürlich nur bei frischen, d. h. 9 bis 20 Stunden alten Culturen). Die oben erwähnten Formvarietäten treten indessen in den meisten Fällen auf Plattenculturen erst relativ spät auf, jedenfalls nicht in so mannigfaltiger Weise 6 Stunden nach Aussaat des zu untersuchenden Materiales, nach welcher Zeit im hygienischen Institute die Diphtheriediagnose gestellt wird. Denn zu diesem Zeitpunkte hat der Diphtheriebacillus, wie schon oben erwähnt, die grösste Wachsthumsenergie und erscheint thatsächlich um diese Zeit in den meisten Fällen in seiner typischen, von Löffler beschriebenen Form, die von den übrigen ihm zu einer späteren Untersuchungsperiode ähnlich erscheinenden Bacillen am leichtesten zu unterscheiden ist. Daher habe ich denn auch bei meinen sämmtlichen, nach 6 Stunden gestellten Diagnosen stets nur die typische Form des Diphtheriebacillus nachweisen können. Zwar mögen sich auch unter meinen Culturen einige finden, welche bei späterer Untersuchung ein von der typischen Form abweichendes Aussehen zeigen; für uns sind indessen diese späteren Formunterschiede irrelevant, da wir zum Zweck der Diphtheriediagnose nur mit jungen, 6stündigen Culturen operiren, welche es uns eben ermöglichen, den echten Diphtheriebacillus möglichst früh zu erkennen. Ich habe in Folge dessen über das Verhalten dieser sogenannten Varietäten hier nichts mehr hinzuzufügen, sondern verweise auf das, was ich im ersten und zweiten Theile dieser Arbeit über das Verhalten meiner Culturen gesagt habe. Im Gegensatz zu Zupnik



und anderen Autoren konnten Slawyk und Manicatide (55) bei ihren Untersuchungen über 30 verschiedene Diphtheriestämme die von Ersteren gefundenen Unterschiede in Wachsthum, Färbung und Virulenz nicht bestätigen. Indess kann der negative Befund dieser Autoren gegenüber dem positiven Ergebniss zahlreicher anderer namhafter Diphtherieuntersucher nicht als beweisend angesehen werden, zumal diese Varietäten nicht allzu häufig auftreten. Beide Verfasser behaupten, die M. Neisser'sche Färbung des Diphtheriebacillus inconstant, dieselbe Färbung dagegen constant bei zwei Pseudodiphtherieculturen gefunden zu haben. Dabei scheinen sie auf das Alter der untersuchten Culturen wohl nicht genügend Werth gelegt zu haben; denn Pseudodiphtheriebacillen nehmen zwar die oben genannte Färbung an, jedoch erst in einem sehr alten Stadium, wohingegen sie dem Diphtheriebacillus in einem verhältnissmässig jungen Alter, etwa von der 9. bis 20. Stunde, eigen ist.

Nachdem wir somit gesehen haben, dass der Diphtheriebacillus, auch in der Mundhöhle ganz gesunder Menschen, und zwar bei Personen, die sich in der Umgebung von Kranken aufhalten, zu 8 Procent. und bei vollständig gesunden Kindern, die scheinbar ausser Connex mit Diphtheriekranken stehen, zu $2^{1}/_{2}$ Procent vorkommen kann, fordert uns dieses Factum zu thatkräftigem Einschreiten gegen diese Infectionsmöglichkeit besonders von Seiten der scheinbar gesunden Personen auf. Wie wir im zweiten Theile der vorliegenden Arbeit gesehen haben, kamen die Infectionen nur durch Contagion mit Kranken oder mit Personen, welche sich in der Umgebung von Kranken aufgehalten haben, zu Stande. Berücksichtigt man diesen Umstand, so bleiben von den 15 Personen meiner zweiten Versuchsreihe nur 5 Individuen übrig, bei denen der Zusammenhang mit einem Diphtherieherd nur theilweise oder gar nicht aufgeklärt ist. Es würde sich somit für das Vorkommen von Diphtheriebacillen bei völlig Gesunden ohne nachweisbaren Connex mit Diphtheriekranken ein Procentsatz von 0·83 ergeben. In Folge dessen ist unsere Hauptaufmerksamkeit zunächst den in der Umgebung von Kranken befindlichen gesunden Individuen zuzuwenden. Denn diese erhalten den Infectionsstoff aus erster Hand und bilden nächst den Kranken für ihre Mitmenschen die Hauptinfectionsgefahr. Man wird indessen diesem unter so verschiedenen Verhältnissen auftretenden versteckten Feinde nur durch ein Mittel auf die Spur kommen können, und zwar durch die bakteriologische Untersuchung. Es wird in Folge dessen zweckmässig sein, jede in der Umgebung eines Kranken befindliche Person, sobald irgend welche Zeichen einer Angina auftreten, bakteriologisch auf das Vorkommen von Diphtheriebacillen in der Mundhöhle zu untersuchen, eine Forderung, welche bei der immer mehr zunehmenden Zahl von eigens zu diesem



Zwecke eingerichteten Diphtherie-Untersuchungsstationen jetzt sehr wohl zu erfüllen möglich ist. Ausserdem käme wohl für sämmtliche in der Umgebung eines Diphtherieherdes sich aufhaltenden gesunden Menschen als prophylaktische Maassnahme eine peinliche und gründliche Desinfection ihrer Mundhöhle durch Gurgelungen mit Desinficientien in Betracht. Wenngleich es der Theorie entspräche, jeden durch die bakteriologische Untersuchung als positiv diagnosticirten Fall wie den Kranken auf's Strengste zu isoliren, ganz ebenso, wie dies ja auch bei den Maassnahmen gegen die Verbreitung der Cholera geschieht, so lässt sich doch ein derartig rigoroses Verfahren in praxi schwer oder gar nicht durchführen. Ist es also unmöglich, den Infectionsherd von der Aussenwelt vollständig abzuschliessen und namentlich Erwachsene in der Ausübung ihres Berufes und häuslicher Verrichtungen zu hindern, so ist es doch mindestens nothwendig, Kinder, welche, wenn auch sonst gesund, Diphtheriebacillen in ihrer Mundhöhle beherbergen, von der Schule so lange auszuschliessen, bis die Diphtheriebacillen aus ihrem Munde verschwunden sind. Erwachsene werden auch viel eher Vorsichtsmaassregeln im Verkehr mit ihren Mitmenschen beobachten, während dies bei Kindern nicht zu erwarten ist. In vielen Fällen dürfte es ferner zweckmässig sein, die in der Umgebung eines Kranken befindlichen gesunden Personen, speciell Kinder, künstlich zu immunisiren. Wenngleich diese Immunisirung die Möglichkeit eines Beherbergens von Bacillen nicht beseitigt und daher die Umgebung vor einer Infection nicht schützt, so sind doch die immunisirten Individuen selbst auf diese Weise vor einer Erkrankung bewahrt. Bleibt durch derartige Maassregeln der Infectionsherd nach Möglichkeit auf einen kleinen Raum beschränkt und werden die sonstigen bei jeder Infectionskrankheit unbedingt erforderlichen Vorsichtsmaassregeln gewissenhaft beobachtet, dann werden auch die Fälle von Diphtheriebacillenbefund bei vollständig Gesunden immer mehr verschwinden, und die Seuche wird dem Erlöschen immer näher gebracht werden.

Kurze Zusammenfassung meiner Untersuchungen.

Aus der Litteratur geht hervor, dass Diphtheriebacillen in der Umgebung von Kranken in 18·8 Procent der untersuchten Fälle gefunden worden sind; ich habe bei genauer Differenzirung mittels der neueren Untersuchungsmethoden unter 123 aus der Umgebung von Kranken stammenden Fällen Diphtheriebacillen nur 10 mal, also in 8 Procent der untersuchten Fälle nachweisen können. Ferner ist aus der Litteratur ersichtlich, dass Diphtheriebacillen bei Personen, die scheinbar mit Diph-



theriekranken nicht in Berührung gekommen sind, in 7 Procent der untersuchten Fälle angetroffen worden sind, während ich unter 600 Fällen nur in $2^1/_2$ Procent derselben Diphtheriebacillen gefunden habe. Unter diesen 15 als positiv von mir diagnosticirten Fällen befinden sich hinwiederum 10, bei denen ein Zusammenhang mit einem Diphtherieherd nachweisbar war; somit ergiebt sich für das Vorkommen von Diphtheriebacillen in der Mundhöhle von Personen, ohne nachweisbaren Connex mit Kranken ein Procentsatz von 0·83 Procent. Sämmtliche 15 Culturen meiner ersten Versuchsreihe erwiesen sich dem Thiere gegenüber als pathogen, während von den 15 Culturen meiner zweiten Versuchsreihe 10 jegliche Thierpathogenität vermissen lassen.

Litteratur-Verzeichniss.

1. Tangl, Studium über die menschliche Diphtherie. I. Zur Aetiologie. *Arbeiten aus der pathol. Anatomie und Bakteriolog. an dem pathol. Inst. zu Tübingen.* Herausgegeben von Prof. Baumgarten. 1891. Bd. I.

2. Beck, Bakteriologische Untersuchungen über die Aetiologie der menschlichen Diphtherie. *Diese Zeitschrift.* 1890. Bd. VIII. Referat Baumgarten's *Jahresbericht.* 1890. S. 330.

3. Hallok Park und Alfred L. Beebe, Diphtheria and Pseudodiphtheria. A report to the New-York City Health Department on the bacteriological examination of 5611 cases of suspected diphtheria with the results of other investigations upon the diphtheria and pseudodiphtheria bacillus. *Journal of Laryngologie, Rhinologie and Othologie.* November 1894. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1894. Nr. 14.

4. Th. Escherich, Zur Frage des Pseudodiphtheriebacillus und der diagnostischen Bedeutung des Löffler'schen Bacillus. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1893. Nr. 21, 22, 23.

5. Johannes Fibiger, Bakteriologiske Studier von Difterie. Baumgarten's *Jahresbericht.* 1895.

6. A. Vogt, Om den bacteriologiske Diagnose ved Difteri. *Norsk Magazin for Laegevidenskab.* März 1895. Referat Baumgarten's *Jahresbericht.* 1895.

7. A. Johanessen, Ueber Immunisirung bei Diphtherie. *Deutsche medicin. Wochenschrift.* 1895. S. 201.

8. E. Müller, Untersuchungen über das Vorkommen von Diphtheriebacillen in der Mundhöhle von nicht diphtherischen Kranken innerhalb eines grossen Krankensaales. *Jahrbuch für Kinderheilkunde.* Bd. XLIII. S. 53.

9. Slawyk, Ueber Immunisirung kranker Kinder mit Behring's Heilserum. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1898. Nr. 6.

10. Feer, Echte Diphtherie ohne Membranbildung unter dem Bilde der einfachen katarrhalischen Angina. *Correspondenzblatt für Schweizer Aerzte.* 1893. Bd. XXIII. Referat *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde.* Bd. XIV. S. 366.

11. Ritter, Croup und Diphtherie. *Berliner Klinik.* Berlin 1894. Juli-Hft. 73. — Kornfeld. Ref. Baumgarten's *Jahresbericht.* 1894. S. 234.

12. J. W. Washbourn u. E. V. Hopwood, Cases illustrating the importance of an examination to the diphtheria bacillus. *British Journal.* Vol. I. p. 221. Ref. Baumgarten's *Jahresbericht.* 1895.

13. P. Aaser, Zur Frage der Bedeutung des Auftretens der Löffler'schen Bacillen bei scheinbar gesunden Menschen. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1895. Nr. 22.



14. F. H. Williams, The prevention of the spread of diphtheria by means of the bacteriol. test. *Boston Med. and Surg. Journal.* Bd. CXXXV. p. 582. Ref. *Hygienische Rundschau.* 1897. S. 951.

15. S. J. Glücksmann, Ueber die bakteriologische Diagnose der Diphtherie. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXVI. S. 417—453.

16. Johannes Fibiger, Ueber die Bekämpfung von Diphtherieepidemieen durch Isolation der Individuen mit Diphtheriebacillen im Schlunde. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1897. Nr. 35, 36, 37, 38.

17. Schanz, Ueber die Pathogenität des Löffler'schen Bacillus. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1898. Nr. 33.

18. M. Neisser, Zur Differentialdiagnose des Diphtheriebacillus. *Diese Zeitschrift.* 1897. Bd. XXIV.

19. Leo Zupnik, Ueber Variabilität der Diphtheriebacillen. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1897. Nr. 50.

20. C. Fränkel, Die Unterscheidung der echten von den falschen Diphtheriebacillen. *Ebenda.* 1897. Nr. 50.

21. W. Uhthoff, Ueber die neueren Fortschritte der Bakteriologie auf dem Gebiete der Conjunctivitis und Keratitis des Menschen. *Sammlung zwangloser Abhandlungen auf dem Gebiete der Augenheilkunde.* Bd. II. Hft. 5.

22. Axenfeld, Das Verhältniss der sogenannten Xerosebacillen der Conjunctiva zu den Hofmann-Löffler'schen Pseudodiphtheriebacillen des Rachens. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1898. Nr. 9.

23. Hans Heinersdorff, Ueber das Vorkommen den Diphtheriebacillen ähnlicher Mikroorganismen im menschlichen Conjunctivalsack, speciell auf der normalen Conjunctiva, nebst einem Beitrage zur Frühdiagnose der Diphtherie. v. Gräfe's *Archiv für Ophthalmologie.* 1898. Bd. XLVI.

24. H. Kurth, Ueber die Diagnose des Diphtheriebacillus unter Berücksichtigung abweichender Culturformen desselben. *Diese Zeitschrift.* 1898. Bd. XXVII.

25. Th. Escherich, *Aetiologie und Pathologie der epidemischen Diphtherie.* Wien 1894.

26. Löffler, Ueber die Ergebnisse seiner weiteren Untersuchungen über die Diphtheriebacillen. *Centralblatt für Bakteriologie u. Parasitenkunde.* 1897. Bd. II.

27. v. Hofmann-Wellenhof, Untersuchungen über den Klebs-Löffler'schen Bacillus und seine pathogene Bedeutung. Nach einem in der 60. Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte zu Wiesbaden am 20. September 1897 gehaltenen Vortrag. *Wiener med. Wochenschrift.* 1888. Nr. 3 u. 4. Ref. *Centralbl. f. Bakteriol. u. Parasitenkunde.* 1887. Bd. II.

28. Roux et Yersin, Contribution à l'étude de la diphtérie. *Annales de l'Institut Pasteur.* Décbr. 1888, Juin 1889. Ref. Baumgarten's *Jahresbericht.* 1888. 1889.

29. Zarniko, Beitrag zur Kenntniss des Diphtheriebacillus. *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde.* 1889. Bd. II. Nr. 6—8.

30. D'Espine et Marignac, Recherches expérimentales sur le bacille diphtérique. *Revue médicale de la Suisse Romande.* 1890. Nr. 1 und 2. Ref. Baumgarten's *Jahresbericht.* 1890.

31. Brieger u. Fränkel, Untersuchungen über die Bakteriengifte. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1890. Nr. 11.

32. A. C. Abott, The ethiology of membranous rhinitis. *The Medical News.* 13 May 1893. Ref. Baumgarten's *Jahresbericht.* 1893.



33. J. H. Wright, Studies in the pathology of diphtheria. *Boston medical and surgical Journal.* 4 and 11 October 1894.

34. Koplik, Forms of true Diphtheria wich simulate simple catarrhal angina. The so called diphtheritis Angina sine membrana. *The New-York medical Journal.* 1892. Vol. II. p. 225. Ref. Baumgarten's *Jahresbericht.* 1892.

35. Mewius, Zur Epidemiologie der Diphtherie. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1894. Nr. 42.

36. Carstens, Zur Incubationsfrage der Diphtherie. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1895. Nr. 35. S. 575.

37. Zbinden, Zur Statistik der klinischen Diphtherie. Nach den Beobachtungen der Diphtherie-Abtheilung der med. Klinik von Sahli in Bern aus den Jahren 1888 bis 1894. *Dissertation.* Bern 1896.

38. C. Fränkel, Bekämpfung der Diphtherie. *Deutsche Vierteljahrsschrift für öffentl. Gesundheitspflege.* 1897. Bd. XXIX.

39. Johanessen, Difteriens forekomst i Norge. Cit. nach C. Fränkel. *Ebenda.* 1897. Bd. XXIX.

40. Schlichter, Beitrag zur Aetiologie der Säuglingsdiphtheritis. *Archiv für Kinderheilkunde.* 1892. Bd. XIV.

41. R. Abel, Beitrag zur Frage von der Lebensdauer der Diphtheriebacillen. Aus dem hygien. Institut der Universität Greifswald. *Centralblatt f. Bakteriologie und Parasitenkunde.* 1893. Bd. XIV. S. 756.

42. Wright und Emerson, Ueber das Vorkommen des Bacillus diphtheriae ausserhalb des Körpers. *Ebenda.* 1894. Bd. XVI. S. 412.

43. Ritter, Die Aetiologie und die Behandlung der Diphtherie. *Verhandlungen der X. Versammlung der Gesellschaft für Kinderheilkunde.* Wiesbaden 1894.

44. E. Reger, Die Weiterverbreitung der Diphtherie. *Verhandluugen des XIII. Congresses für innere Medicin zu München.* S. 635.

45. R. Klemensiewicz und Escherich, Ueber einen Schutzkörper im Blute der von Diphtherie geheilten Menschen. *Centralblatt für Bakteriologie u. Parasitenkunde.* 1893. Bd. XIII. S. 153.

46. R. Abel, Ueber die Schutzkraft des Blutserums an Diphtherie-Reconvalescenten und gesunden Individuen gegen tödtliche Dosen von Diphtheriebacillenculturen und Diphtheriebacillengift bei Meerschweinchen. *Deutsche medicin. Wochenschrift.* 1894. Nr. 48 u. 50.

47. Wassermann, Ueber die persönliche Disposition und Prophylaxe gegenüber der Diphtherie. *Diese Zeitschrift.* Bd. XIX. S. 408.

48. W. Orlowski, Ueber die antitoxischen Eigenschaften des Blutserums bei Kindern. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1895. S. 400.

49. A. Gottstein, Die Contagiosität der Diphtherie. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1893. Nr. 35. S. 594.

50. Peters, Verhältniss der Xerosebacillen zu den Diphtheriebacillen. *Aus den Sitzungsberichten der niederrheinischen Gesellschaft für Natur- und Heilkunde zu Bonn.* 1896.

51. Bernheim u. Folger, *Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk.* Bd. XX. S. 1.

52. G. Gladin, Ueber die Häufigkeit und Lebensdauer virulenter Diphtheriebacillen im Rachen nach überstand. Diphtherie. Ref. Baumgarten's *Jahresber.* 1895.

53. J. Loos, Ueber das Verhalten des Blutserums gesunder u. diphtheriekranker Kinder zum Diphtherietoxin. *Wiener klin. Wochenschrift.* Nr. 22. Ref. Baumgarten's *Jahresbericht.* 1896.

54. F. Passini, Versuche über die Dauer der antidiphtherischen Schutzimpfung. Ref. Baumgarten's *Jahresbericht.* 1896. S. 291.

55. Slawyk u. Manicatyde, Untersuchungen über 30 verschiedene Diphtheriestämme mit Rücksicht auf die Variabilität derselben. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXIX.

56. G. Sharp, The soil in relation to diphtheria and its organism. *British med. Journal.* Vol. II. p. 442. Ref. Baumgarten's *Jahresbericht.* 1896.

57. Mitscha, Diphtherieerkrankungen unter den Besuchern eines Kindergartens. *Zeitschrift für Schulgesundheitshygiene.* Nr. 7/8. S. 369.

58. Landouzy, Résult. d'une enquête bactérioscopique portant sur 860 cas d'angines, ayant donné 42·32 % de diphtérie, 57·68 % de sur diphtérie. *Bulletin de l'Acad. de Méd.* T. LIX. Nr. 30.

59. Berestnew, Ueber verästelte Diphtheriebacillen. *Russkiy Archiv Pathologii.* Bd. III. Ref. Baumgarten's *Jahresbericht.* 1898. S. 260.

60. Thure Hellström, *Militair Helsowärd.* 1896. Cit. nach Johannes Fibiger, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1897. Nr. 35.

61. F. G. J. Steenmeyer, Over den aard en den beetekins der Corynebacterien, die op den normalen Pharynx von den mensch voorkomen. *Dissertation.* Utrecht. Ref. Baumgarten's *Jahresbericht.* 1898. S. 316.

62. Crocq sen., Betrachtungen über das Wesen u. die Diagnose der Diphtherie. *Wiener klin. Rundschau.* Nr. 4. S. 55.

63. C. Flügge, Die Verbreitungsweise der Diphtherie mit specieller Berücksichtigung des Verhaltens der Diphtherie in Breslau 1886—1890. *Diese Zeitschrift.* 1894.

64. Löffler, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1894. Nr. 47.

65. Forbes, *Wiener med. Presse.* 1895. Nr. 5. S. 192.

66. W. H. Park, Diphtheria and allied pseudomembranous inflammations. *New-York medical Record.* 1892. July 30 and August 6.

67. C. Fränkel, Eine morphologische Eigenthümlichkeit des Diphtheriebacillus. *Hygienische Rundschau.* 1895. Nr. 8. S. 349.



Neue Versuche über die Unschädlichmachung von Stärkefabrikabwässern.

Von

Dr. **Seelos**,
z. Z. Assistent am hygienischen Institut der Universität Heidelberg.

Die Beseitigung oder Unschädlichmachung von Fabrikabwässern hatte sich die angewandte Chemie schon lange zur Aufgabe gemacht. Und zwar waren es namentlich die Abwässer aus Kartoffelstärkefabriken, die, durch ihre rasche Zersetzung, Betriebsstörungen und Unannehmlichkeiten jeglicher Art verursachend, Gegenstand öfterer Erörterung waren. Diese Abwässer flossen häufig ungereinigt oder höchst mangelhaft gereinigt in Bäche oder kleinere Flüsse und verbreiteten einen unangenehmen, penetranten Geruch, der der ganzen Umgebung Anlass zu Klagen gab, oder aber die in Zersetzung begriffenen Abwässer selbst oder die zu deren Reinigung verwandten Chemikalien gefährdeten die Fischzucht. So vielseitig nun auch die Bemühungen waren, diesen Missständen abzuhelfen, gelang es leider immer nur unvollkommen, ein Verfahren zur Reinigung der Kartoffelstärkefabrikabwässer zu schaffen, welches auch der Rentabilität nur einigermassen entsprochen hätte.

Die Getreidestärkefabrikabwässer konnten, da sie viel phosphorreicher waren als die Abwässer der Kartoffelstärkefabriken, durch geeignete Behandlung direct zu Düngezwecken verarbeitet werden. Es galt also für letztere ein anderes Verfahren zu ermitteln, das neben vollkommener Unschädlichmachung der Abwässer auch bezüglich der Rentabilität den Anforderungen genügte. Um dies zu erreichen, wurden die nachfolgenden Versuche angestellt. Da der Gehalt der Abwässer an organischen Stoffen den Maassstab für ihre Verunreinigung und Zersetzbarkeit abgab und die bisher üblichen Untersuchungsmethoden für den Gehalt an diesen Stoffen

ungenau und unzureichend schienen, mussten diese Methoden, die Rückstandsbestimmung bezw. der Glühverlust und die Oxydirbarkeit mit Kaliumpermanganat geprüft werden. — Ich fand bei allen meinen Versuchen, dass beide Methoden, namentlich die letztere, je nach dem Gehalte an Nitriten und anderen Verunreinigungen wechselnde und fehlerhafte, somit unbrauchbare Resultate ergaben. Ebenso lückenhaft erwies sich die Rückstandsbestimmung durch Verdampfen und nachfolgendes Austrocknen, je nach dem Gehalte an mehr oder weniger leichtflüchtigen organischen Stoffen und je nach der innegehaltenen Trocknungstemperatur (105°, 110°, 125° etc.).

Waren nun die Abwässer mit gewissen Chemikalien, namentlich aber Kalkmilch, behandelt worden, wie es in den nachfolgenden Versuchen regelmässig geschah, so wurde die zuerst genannte Methode der Untersuchung sehr viel ungenauer, die letztere aber ganz unbrauchbar.

Aus diesem Grunde schien es mir geboten, dass ich bei allen meinen Versuchen neben der Oxydirbarkeitsprüfung eine Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl vornehmen sollte.

Leider war es mir trotz vielfacher Bemühungen nicht möglich, aus der in der Nähe befindlichen Kartoffelstärkefabrik ein natürliches Abwasser zu bekommen, da die „Campagne“ immer nur kurze Zeit eröffnet war. Ich war also darauf angewiesen, meine Versuche an einem von mir künstlich hergestellten Kartoffelabwasser zu machen. Hierbei glaubte ich darauf achten zu müssen, das Abwasser in der Zusammensetzung dem natürlichen möglichst ähnlich zu machen und bei allen Versuchen unter thunlichst gleichen Verhältnissen, namentlich bezüglich der Concentration zu arbeiten. Da aber die Kartoffeln von sehr wechselndem Gehalte an Wasser und Eiweissstoffen etc. sind, war dies nur unvollkommen möglich, namentlich, weil immer nur verhältnissmässig geringe Mengen des Abwassers der leichten Zersetzbarkeit wegen in Arbeit genommen werden konnten.

Zu obigem Zwecke suchte ich mir nun möglichst ausführliche Analysen von natürlichem Kartoffelabwasser zu beschaffen, konnte aber in der mir zu Gebote stehenden Litteratur nur eine solche von König, „Verunreinigung der Gewässer“ und eine andere von Dr. Wimmer in Stettin erhalten, welche beide ich mit einigen Vergleichungszahlen der von mir in Greifswald hergestellten Abwässer hier folgen lasse.

Gleichzeitig möchte ich hier erwähnen, dass ich ausser dem genannten Werke von König und „Die Abwässer der Fabriken“ von Dr. H. Benedikt keine Abhandlung finden konnte, die irgend etwas Specielles über Reinigung der Stärkefabrikabwässer enthalten hätte.



Tabelle I. (Prof. König.)

Die Zahlen bedeuten mg pro Liter	Organische Stoffe	Darin Stickstoff	Mineral-stoffe	Kali	Phosphor-säure	Ammoniak	Salpeter-säure	Kalk
Kartoffelstärkeabwasser	1134·2	140·67	723·8	212·5	56·6	37·4	3·8	—

Tabelle II. (Dr. Wimmer.)

Ort der Untersuchung	Gelöste Stoffe in mg pro Liter.			Suspendirte Stoffe in mg pro Liter.			Sauerstoffverbrauch in mg pro Liter.			Gesammt-Stickstoff nach Kjeldahl in mg pr. Lit. Gelöste u. suspendirte Stoffe
	Abdampf-Rückstand bei 105°	Glühverlust (organ. Stoffe)	Mineralischer Rest	Glühverlust (organ. Stoffe)	Mineralische Stoffe	In Summa	Gelöste Stoffe	Suspendirte Stoffe	In Summa	
Dr. Wimmer	994·0	730·0	264·0	476·1	7·1	483·2	—	—	104·0	—
Greifswald	1765·0	1225·0	540·0	28·0	8·1	36·1	307·4	13·84	321·2	107·8
Greifswald	1105·0	700·0	405·0	144·0	12·0	156·0	181·6	41·6	223·2	55·8
Greifswald	1945·0	1235·0	710·0	—	—	—	—	—	340·8	110·0

Da mir die beiden Analysen der Tabelle I und II zur allgemeinen Orientirung über die Beschaffenheit natürlicher Kartoffelabwässer nicht genügenden Aufschluss geben konnten, wandte ich mich, um auch über die Menge der täglich producirten Abwässer und dergleichen mehr orientirt zu werden, an mehrere Stärkefabriken. Diesen Schreiben legte ich jeweils einen Fragebogen folgenden Inhaltes bei:

1. Nach welchem Verfahren geschieht die Fabrikation und namentlich das Auswaschen der Stärke?

2. Wie viel Centner Kartoffeln werden täglich verarbeitet?

3. Wie viel Abwasser resultirt aus einem Centner Kartoffeln?

4. Auf welche Art werden Ihre Stärkefabrikabwässer beseitigt, bezw. gereinigt, und welches sind Ihren praktischen Erfahrungen gemäss die Erfolge des betreffenden Verfahrens?

5. Welche Kosten verursacht die Abwässerreinigung täglich oder pro Centner Kartoffeln?

6. Wie ist die Beschaffenheit des Abwassers, wenn es unmittelbar aus der Fabrik kommt, — also ungereinigt — bezw. Reaction, Schäumen, Farbe und Geruch, und wenn es ungereinigt längere Zeit stehen bleibt (in Klärbassins)?

7. Welches ist die Beschaffenheit des nach Ihrer Methode gereinigten Abwassers?

8. Es wäre von besonderem Interesse, zu erfahren, wie viel organische Stoffe die Abwässer vor und nach der Reinigung enthalten, d. h. welche Wirkung durch die chemische Reinigung erzielt wird?

Auf diese Schreiben bekam ich leider nur von einer Fabrik eine einigermassen ausführliche Antwort, die im Wesentlichen ungefähr folgendermassen lautete:

„Ad 1. Aus einem Centner Kartoffeln erhält man 9 bis 10 ^{kg} Kartoffelstärke von ca. 18 bis 20 Proc. Wassergehalt. Fruchtwasser erhält man ca. 40 Liter, die im Ganzen um das Zehnfache mit frischem Wasser verdünnt werden. Dadurch entstehen pro Centner Kartoffeln ca. 400 Liter Abwasser.

Ad 2. Während der Kartoffelcampagne werden täglich 7200 Centner Kartoffeln verarbeitet. (Man erhält daraus, je nach dem Stärkegehalt der Kartoffeln, 67 500 ^{kg} Stärke von 18 bis 20 Proc. Wassergehalt.)

Ad 3. Die Verarbeitung der Kartoffeln ist folgendermassen: Die Kartoffeln werden auf Waschmaschinen mittels reinen Flusswassers gründlich reingewaschen, so dass weder Sand noch Lehmtheile daran haften bleiben. Die so gereinigten Kartoffeln werden auf Reibmaschinen oder Mühlen unter beständigem Wasserzufluss ganz fein gerieben, und der feine Kartoffelbrei kommt sodann über eine grosse Anzahl Schüttelsiebe, die mit feinster Seidegaze überspannt sind. Unter beständigem Zufluss von reinem Wasser werden so die Stärkekörner von dem Faserstoff geschieden. Die durchgehende Stärkemilch kommt nun auf Absatzschlemmrinnen, wo sich das Wasser von der Stärke abscheidet. Nach mehrmaligem Waschen und Abschlemmen kommt die Stärke nach den Centrifugaltrockenmaschinen, wo das Wasser bis auf 35 Procent abgeschleudert wird, und von da auf continuirlich arbeitende Dampftrockenmaschinen, durch die alles Wasser bis auf 18 bis 20 Procent ausgetrieben wird. Zur Herstellung von Kartoffelmehlen werden Mühlen und Sichtmaschinen verwendet.

Ad 4. Man hat zwei verschiedene Arten von Abwässern, welche getrennt werden, und zwar laufen die sandigen und lehmigen Abwässer von den Kartoffelwaschwässern, nachdem sie grössere Absatzbassins für Sand und Lehm passirt haben, direct zum Flusse. Die Abwässer aus der Stärkefabrik dagegen passiren zunächst 32 grosse, flache Absatzbassins, worin sich noch die etwaige Stärke und der Faserstoff absetzt. Das Wasser läuft von da, ohne gereinigt zu werden, hier in den Fluss, der eine starke



Strömung hat. Dagegen wurde dies einer Fabrik an einem anderen Orte untersagt, weil die Strömung des dortigen Flüsschens zu gering wäre und dadurch die Fische, Aale u. s. w. ausgerottet werden könnten. Diese Abwässer wurden dann auf ein über 80 Morgen grosses Stück Land gepumpt, welches kieshaltig war und so „berieselt" werden sollte. Schon nach einem Monat verschlammte dieses Land derart und wurde so wenig durchlässig, dass die Verarbeitung der Kartoffeln aufgegeben werden musste und nur noch das Raffiniren der feuchten Rohstärke betrieben werden konnte.

Versuche mit chemischer Reinigung wurden öfters gemacht, jedoch alle ohne den gewünschten Erfolg. Dasjenige Verfahren, das sich noch am meisten geeignet hätte, war das für Zuckerfabrikabwässer allgemein eingeführte Hulva'sche Reinigungsverfahren. Dasselbe ist folgender Art nach König (S. 280): „Zu dem Verfahren gehören drei in der Kälte sich vollziehende Operationen, und zwar:

1. Eine Scheidung und Fällung des Schmutzwassers mittels eines Pulvers von neuer und eigenthümlicher Zusammensetzung. (Nämlich ein Salzgemisch von Eisen-, Thonerde- und Magnesiapräparaten, dazu Kalk mit besonders präparirter Zellfaser.)

2. Eine Saturation der geklärten, stark alkalischen Flüssigkeit mittels Kohlensäure.

3. Der Zusatz von sehr geringen Mengen von schwefliger Säure zu der saturirten, schwach alkalischen bis neutralen Flüssigkeit behufs besserer Conservirung derselben."

Dieses Verfahren war für die Stärkeindustrie zu theuer, da es pro Cubikmeter Abwasser ungefähr 12 Pfennige, also für Kartoffelstärkefabrikabwässer täglich annähernd 300 Mark kosten würde."

So lautete die Antwort der einen Stärkefabrik, an die ich mich unter anderen gewandt hatte. Zu diesen Angaben schickte mir diese Fabrik auf meinen Wunsch die von dem Chemiker Dr. Wimmer in Stettin gemachte Analyse ihrer Kartoffelabwässer. Dieselben waren nach einem eigenen Verfahren des Fabrikchemikers gereinigt worden, und zwar mit Alaunerde, Kieserit, Eisenvitriol und Kalk. Es wurden die gereinigten Abwässer für sich untersucht, und zwar an zwei verschiedenen Tagen, sowie der betreffende kleine Fluss vor und nach Einfluss der Abwässer. (Tabelle III.)



Tabelle III.

Bezeichnung und Tag der Probenahme	Physikalische Eigenschaft		Suspendirte Stoffe			Gelöste Stoffe			Härte (Deutsche Grade)	Cl	SO_3	HNO_2	HNO_3	NH_3
	Farbe u. s. w.	Reaction	Mineralische Stoffe	Organ. Stoffe (Glühverlust)	In Summa	Abdampf-Rückstand bei 110°	Organ. Stoffe (Glühverlust)	Zur Oxydation d. organ. Stoffe verbraucht $KMnO_4$						
Geklärtes Abwasser 15. VI. 1894	schwach gelb klar	schwach alkalisch	5·3	2·7	8·0	324·0	110·0	50·0	9·6	17·7	26·2	—	—	Spuren
Geklärtes Abwasser 23. VI. 1894	„		4·8	2·9	7·7	290·0	90·0	49·4	10·6	17·7	27·4	—	—	
Flusswasser **vor** Einfluss d. Abwassers	wenig gelb geringe Trübung		—	—	—	220·0	20·0	15·3	8·4	17·7	11·0	—	—	
Flusswasser **nach** Einfluss d. Abwassers	„		—	—	—	220·0	20·0	15·5	8·4	17·7	12·0	—	—	

Leider fehlte bei dieser Tabelle die Analyse des entsprechenden ungereinigten Abwassers, sie konnte daher nur als Anhaltspunkt dienen, in welchem Zustande ein geklärtes Abwasser unbeanstandet in einen Fluss mit sehr geringer Strömung fliessen durfte, was bei dem von dem Fabrikchemiker gebrauchten Reinigungsverfahren der Fall war. Warum nun dieses Verfahren in der betreffenden Fabrik nicht beibehalten wurde, ob es zu kostspielig war oder ob andere Gründe vorlagen, konnte ich nicht erfahren.

Bei Kartoffelstärkefabrikabwässern versteht man unter dem Begriff „Reinigung“ die Entfernung oder Unschädlichmachung derjenigen organischen Stoffe, die sich leicht zersetzen und dann durch die gebildeten Zersetzungsproducte die oben erwähnte Gefährdung der Fischzucht oder durch ihren Geruch eine Belästigung der umwohnenden Menschen zur Folge haben können. Man unterscheidet zwei Arten von Reinigung:

1. Die Berieselung oder (nach König) die „natürliche“ Reinigung, und

2. die Beseitigung der organischen Stoffe durch chemische Fällungsmittel.

Bei der Berieselung, die nach König die „zweckmässigste Reinigung“ sein soll, werden die suspendirten organischen Stoffe vom Boden mechanisch zurückgehalten, während die gelösten Stoffe entweder im Boden

direct absorbirt oder oxydirt und somit mineralisirt werden, um dann den Pflanzen als Nahrung zu dienen. Die Berieselung kann aber nur stattfinden, wenn ein geeignetes und hinreichend grosses Gelände zur Verfügung steht, was namentlich bei der ungeheuren Production von Stärkefabrikabwässern nur selten der Fall ist. Es kommt also vorzugsweise nur die chemische Reinigung hier in Betracht, deren Princip darauf beruht, dass in dem Abwasser durch chemische Mittel voluminöse, schwere Niederschläge erzeugt werden, die theils mechanisch die suspendirten organischen Stoffe mit sich niederreissen, theils auch direct auf die gelösten organischen Verbindungen chemisch einwirken, sie oxydiren oder in labilere Körper überführen. Es sind in allen Stärkeabwässern die organischen Stoffe sowohl in gelöster, als auch in suspendirter Form enthalten.

Nach König sollen zwar „lösliche organische Stoffe nicht oder nur in geringem Maasse" durch chemische Mittel ausgefällt werden können. Durch die bei den nachfolgenden Versuchen angewandte Untersuchungsmethode konnte ich jedoch durch den ganzen Gang meiner Arbeit constatiren, dass ein nicht unerheblicher Theil von gelösten organischen Stoffen ausgefällt wurde. Um den Beweis hierfür zu erbringen, wurde in einem Falle frisch bereitetes Kartoffelabwasser so oft filtrirt, bis es absolut klar und somit von allen suspendirten Theilchen befreit war. In diesem Abwasser wurden, wie weiter unten ausgeführt werden soll, ungefähr 58 Procent Gesammtstickstoff durch das betreffende Verfahren entfernt, was doch, da das Wasser weder Salpetersäure, noch salpetrige Säure oder Ammoniak enthielt, nur auf organische Verbindungen schliessen lassen konnte.

Was nun die chemischen Fällungmittel betrifft, die sich in der Praxis bisher noch am meisten bewährt hatten, so sind es vorzugsweise die Chloride und Sulfate des Magnesiums, Eisens, Aluminiums und die kieselsauren Salze des Natriums und Kaliums mit darauffolgendem Zusatz von Aetzkalk oder Aetzkalk allein. Im ersteren Falle bilden sich schwere Hydroxydniederschläge der betreffenden Metalle, die, wie schon erwähnt, mechanisch niederreissend wirkten. Ich konnte aber bei fast allen meinen Versuchen bemerken, dass schon auf Zusatz von Eisenverbindungen auch ohne Kalk eine Farbenänderung, ja sogar ein starker, aber feiner Niederschlag entstand. Es scheint also, dass schon Eisensalze allein mit den eiweissartigen Stoffen dieser Abwässer schwer- oder unlösliche Verbindungen eingingen. Mit diesen oben genannten chemischen Fällungsmitteln machte ich nun zunächst eine Anzahl von Vorversuchen. Ich hatte dabei im Auge, die bekannten Methoden nachzuprüfen, um eventuell durch eine Zusammenstellung mehrerer Verfahren mehr zu erzielen, als es bisher bei einem der bekannten erreicht war. — Die Abwässer hierzu wurden so



hergestellt, dass sorgfältig gereinigte Kartoffeln mit der zwanzigfachen Menge Wasser zerstampft, und die nach einigen Stunden über dem Kartoffelbrei stehende, schwach getrübte, aber stark schäumende Flüssigkeit abgegossen wurde. Bei diesen Vorversuchen beschränkte ich mich bei der Beurtheilung des Erfolges der betreffenden Reinigungsverfahren auf allgemeine Erscheinungen, wie verminderte Zersetzbarkeit, geringeres Schäumen u. s. w.

Bezüglich des Schäumens konnte ich nämlich constatiren, dass, je geringer der Gehalt eines Abwassers an gelösten Eiweissstoffen war, dasselbe im gleichen Verhältniss um so weniger schäumte. Bei einigen Vorversuchen, die mir von besonderer Wichtigkeit zu sein schienen, wurde auch eine Oxydirbarkeitsbestimmung vorgenommen. Die wichtigsten dieser Vorversuche waren folgende:

1. Von dem concentrirten Kartoffelabwasser wurden 150 ccm zu 2 Liter verdünnt und mit 50 ccm einer Lösung von 10·0 grm Magnesiumsulfat, 10·0 grm Liquor ferri sesquichlorati Ph. G. II und 2·0 grm Salpetersäure auf 1000 ccm Wasser versetzt (Lösung I). Nach mehrfachem Umrühren wurde 1·0 grm frisch gebrannter Kalk, in ca. 50 ccm Wasser angerührt, zugesetzt. Der sofort entstandene voluminöse Niederschlag setzte sich ziemlich rasch ab.

2. Ein ebenso hergestelltes Wasser wurde mit ebenso viel der Lösung, aber 2·0 grm Kalk, versetzt. Das Absetzen erfolgte etwas rascher. Um zu sehen, ob allein der Kalk massgebend war für das Resultat, wurde

3. ein gleiches Abwasser mit 25 ccm und 2·0 grm Kalk versetzt, und

4. mit 2·0 grm Kalk allein ohne Lösung,

5. mit 50 ccm der Lösung und 4·0 grm Kalk. — Dieses Resultat schien besser als die vier ersten zu sein. Das Absetzen erfolgte schon nach 3 Minuten und die darüber stehende Flüssigkeit war klar und vollkommen farblos, während das ungereinigte, aber verdünnte Kartoffelabwasser röthlich gelb und trüb war.

6. An Stelle von 50 ccm wie bei Nr. 5 jetzt nur 25 ccm der Lösung I und 4·0 grm Kalk.

Es zeigte sich, dass mit 50 ccm Lösung, wenn auch nicht das Doppelte, so doch bedeutend mehr erreicht wurde, als mit 25 ccm.

Zur besseren Uebersicht sind diese Vorversuche hier tabellarisch aufgeführt. (Tabelle IV.)

Tabelle IV.

Nr.	Reinigungsverfahren	Sauerstoffverbrauch **vor** der Reinigung mg pro Liter	Sauerstoffverbrauch **nach** der Reinigung mg pro Liter
1	Lösung I 50 ccm + 1·0 grm Kalk	128·0	81·2 (36·5)
2	„ 50 „ + 2·0 „ „	128·0	66·8 (47·7)
3	„ 25 „ + 2·0 „ „	128·0	88·0 (31·0)
4	nur 2·0 „ „	128·0	90·3 (29·0)
5	„ 50 „ + 4·0 „ „	128·0	15·6 (88·0)
6	„ 25 „ + 4·0 „ „	128·0	19·2 (85·0)

Die rechts eingeklammerten Zahlen bedeuten den Erfolg der Reinigung in Procenten.

Nr. 5 und 6 dieser Tabelle zeigen die besten Resultate; während Nr. 1, 2, 3 und 4 verhältnissmässig noch stark schäumten und sich bald faulig zersetzten, war dies bei Nr. 5 und 6 nur in geringem Maasse der Fall. Der Zusatz der oben bezeichneten Lösung I bewirkte sowohl in der Farbe der Abwässer eine Aenderung, als auch einen feinen, aber dichten Niederschlag, der erst nach Zusatz von Kalk grossflockig mit niedergerissen wurde.

Aehnliche Resultate wurden erzielt, wenn man Oxalsäure, Magnesiumsulfat und Kalk zusetzte. Es schien, als ob der sich bildende, feine Niederschlag von oxalsaurem Kalk sehr geeignet sei, die gelösten organischen Stoffe zu verändern, bezw. zur Ausscheidung zu bringen. Ausserdem wurde constatirt, dass eine längere Einwirkung jedes einzelnen der zugesetzten Ingredienzien bessere Erfolge hatte, als wenn die Mischung der drei Chemikalien gleichzeitig geschah.

Es wurde nun in den folgenden Versuchen festgestellt, indem die Zeit, in welcher die einzelnen Zusätze erfolgten, genau beobachtet wurde, ob das Magnesiumsulfat allein oder nur im Vereine mit Oxalsäure ein gutes Ergebniss lieferten.

7. Das Kartoffelabwasser, welches trüb und gelb aussieht und schwach sauer reagirt, wurde mit 1.0 grm Oxalsäure, nach 15 Minuten mit 2·0 grm Magnesiumsulfat und nach einer weiteren Viertelstunde mit 4·0 grm Kalk versetzt. In den viertelstündigen Pausen wurde öfter umgerührt. Der sich rasch bildende flockige Niederschlag setzte sich in etwa 5 Minuten klar ab. Die Flüssigkeit schäumte fast nicht mehr beim Schütteln.

Nr. 8 wurde genau ebenso behandelt, nur mit Weglassung der Oxalsäure. Das Absetzten erfolgte ebenso rasch, während das Schäumen etwas stärker war als bei Nr. 7.

Bei Nr. 9 wurde das Magnesiumsulfat weggelassen und nur nach einer Viertelstunde der Kalk zugesetzt. Es entstand ein feiner Niederschlag,



der sich nur schwer absetzte. Das Wasser war noch gelblich trüb und eine filtrirte Probe schäumte noch stark.

Der nun folgende Versuch Nr. 10 wurde mit einem hiesigen Klinikabwasser, welches mit Fäcalien, Blut u. s. w. verunreinigt war, vorgenommen, um ein vergleichendes Bild zu bekommen, wie die Wirkung der obigen Chemikalien auf diese Art Abwässer sei. Es wurde nur mit 2·0 ^{grm} Magnesiumsulfat und 4·0 ^{grm} Kalk, und

Nr. 11 mit 2.0 ^{grm} Magnesiumsulfat, 1·0 ^{grm} Oxalsäure und 4·0 ^{grm} Kalk versetzt.

Beide Versuche fielen unbefriedigend aus, die Abwässer waren nach der Reinigung noch gelb gefärbt, trübe und setzten sich schlecht ab. Gleichzeitig sollte bei diesen 5 Versuchen untersucht werden, ob sich, wie früher öfters, insbesondere auch von König, behauptet wurde, nach längerem Stehen der geklärten Abwässer die Oxydirbarkeit erhöhte. König schreibt nämlich in seinem schon mehrfach erwähnten Buche (S. 182) wie folgt:

„Man findet nicht selten, dass die mit einem Ueberschuss von Kalk behandelten Abwässer sogar mehr organische Stoffe in Lösung enthalten, als die ursprünglichen Abwässer. Dieses lässt sich nur so erklären, dass der überschüssige Kalk zersetzend auf die suspendirten organischen Schlammstoffe wirkt und davon einen Theil in eine lösliche Form überführt.“

Diese 5 Versuche sind hier tabellarisch aufgeführt. (Tabelle V.)

Tabelle V.

Nummer	Sauerstoffverbrauch in mg pro Liter			Beschaffenheit	
	ungereinigt	gereinigt	nach 48 Stunden	ungereinigt	gereinigt
7	213·6	24·0 (88)	30·8	gelblich trüb, schwach sauer	klar, farblos alkalisch
8	221·6	23·2 (89)	38·8	desgl.	desgl.
9	204·0	80·0 (60)	64·4	desgl.	schwach gelblich, trüb, alkalisch
10	58·4	37·6 (36)	37·4	gelblich trüb, neutral	desgl.
11	58·4	38·5 (36)	37·0	desgl.	desgl.

Die eingeklammerten Zahlen bedeuten den Reinigungswerth in Procenten.

Bei Nr. 7 und 8 schien wirklich ein Theil der suspendirten organischen Substanz wieder gelöst worden zu sein, während sich wahrscheinlich bei Nr. 9 der suspendirte Niederschlag, bevor er durch den überschüssigen Kalk wieder gelöst werden konnte, abgesetzt hatte.

Die folgenden weiteren Vorversuche wurden nun mit einem etwas stärkeren Kartoffelabwasser angestellt. Der Zusatz der Salze geschah in

ungefähr 1 procentiger Lösung, und der Kalk wurde, wie bisher, mit 50 bis 100 ccm Wasser angerührt. (Tabelle VI.)

Tabelle VI.

Nr.	Reinigungsverfahren	Sauerstoffverbrauch in mg pro Liter		Beschaffenheit	
		ungereinigt	gereinigt	ungereinigt	gereinigt
12	Magnesiumsulfat 1·0, Kalk 2·0	312·48	111·2 (64)	Geruch nach frischen Kartoffeln, gelbbraun, trüb, schwach sauer.	gelb, trüb, alkalisch
13	Magnesiumsulfat 1·0, Kalk 4·0	312·48	96·8 (69)		desgl.
14	Magnesiumsulfat 2·0, Kalk 2·0	312·48	113·84 (63)		desgl.
15	Magnesiumsulfat 2·0, Kalk 4·0	312·48	86·4 (72)		klar, farblos, alkalisch
16	Magnesiumsulfat Eisensulfat āā 1·0 Kalk 2·0	312·48	93·6 (70)		opalescirend, farblos, alkal.
17	Magnesiumsulfat Eisensulfat āā 1·0 Kalk 4·0	312·48	63·2 (79)		klar, gelblich, alkalisch
18	Magnesiumsulfat Eisenchlorid āā 1·0 Kalk	312·48	96·9 (69)		trüb, gelb, neutral

Die eingeklammerten Zahlen bedeuten den Reinigungswerth in Procenten.

Bei Nr. 12, 14 und 18 scheint der Zusatz von Kalk nicht genügend gewesen zu sein, während Nr. 15, 17, auch noch Nr. 16 befriedigende Resultate lieferten.

Sowohl die hier aufgeführten Vorversuche, als auch sehr viele, denen hier nicht Erwähnung geschieht, zeigten, dass namentlich Magnesiumsulfat, Eisensulfat und Eisenchlorid mit einem darauffolgenden, nicht zu geringen Zusatze von Kalk die besten Resultate ergaben.

Ausserdem bemerkte ich, dass das ungereinigte Abwasser nach längerem Stehen sich zersetzte und diese Zersetzung um so schneller und intensiver vor sich ging, je schlechter die Kartoffeln zuvor gereinigt und je wärmer der Aufbewahrungsort war.

Frisch bereitetes Kartoffelabwasser reagirte durch die in Lösung befindlichen Fruchtsäuren der Kartoffeln schwach sauer, hatte den Geruch nach frischen Kartoffeln und setzte der chemischen Reinigung viel mehr Widerstand entgegen, als älteres, in Zersetzung begriffenes Abwasser. Letzteres reagirte alkalisch oder neutral und wies einen starken Geruch nach Trimethylamin auf.



So erschien es durchaus begreiflich, dass durch den Zusatz von gelöschtem Kalk bei den frisch bereiteten Abwässern zuerst die saure Reaction aufgehoben werden musste, bevor eine Wirkung des Kalkes auf die Magnesium-, Aluminium- oder Eisensalze sich geltend machen konnte. War nun noch der officinelle käufliche Liquor ferri sesquichlorati durch einen Gehalt an freier Salpetersäure stark sauer, so musste auch dieser Umstand störend wirken. Es wurde deshalb bei einigen späteren Versuchen anstatt der officinellen Eisenchloridlösung das Ferrum sesquichloratum sicc. in 1 procentiger wässeriger Lösung verwandt.

Bei den nun folgenden Versuchen, die sich auf die soeben angeführten Vorversuche stützen sollten, wurden an chemischen Fällungsmitteln vorzugsweise wieder Magnesiumsulfat, Eisenchlorid und Eisensulfat auf ihre Leistungsfähigkeit geprüft. Hierbei wurde ausser der Oxydirbarkeitsprüfung noch eine Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl vorgenommen, bei der mir die veröffentlichte Arbeit von Proskauer und Zülzer[1] einige praktische Winke an die Hand gab. Die Ausführung dieser Stickstoffbestimmungsmethode war folgendermassen:

100 ^{ccm} des (ungereinigten) Abwassers wurden, um eventuell vorhandene flüchtige Stoffe zu binden, mit 5 ^{ccm} verdünnter Schwefelsäure und etwas Zinkstaub, um etwa vorhandene Nitrate in Ammoniak überzuführen, in einem langhalsigen Kaliglaskolben auf ca. 5 bis 10 ^{ccm} eingedampft. In diesem Kolben wurde auch die Digestion mit der concentrirten Säure, und zwar auf einem Drahtnetze, das auf einer Asbestscheibe ruhte, und welche beide der Form des Kolbenbodens angepasst waren, vorgenommen. Diese Einrichtung gestattete eine ganz allmähliche Temperatursteigerung, welche für die vollständige Ueberführung der stickstoffhaltigen organischen Stoffe in Ammoniak von wesentlicher Bedeutung ist. Als Digestionsflüssigkeit konnte das von Proskauer und Zülzer angegebene Säuregemisch (800 ^{ccm} reine concentrirte Schwefelsäure, 100 ^{grm} Phosphorsäureanhydrid und 200 ^{ccm} rauchende Schwefelsäure) deshalb nicht Verwendung finden, weil sowohl das Phosphorsäureanhydrid, als auch insbesondere die rauchende Schwefelsäure fast immer mit Spuren von Stickstoff verunreinigt sich erwiesen. Bei der Stickstoffbestimmung von Abwässern, namentlich in gereinigtem Zustande kommen aber nur so geringe Stickstoffmengen in Betracht, dass auch die geringste Verunreinigung der Reagentien mit Stickstoff die Genauigkeit der Resultate beeinträchtigen würde. Es wurde daher nur reine concentrirte Schwefelsäure von dem specifischen Gewicht 1·84 benützt, die von E. Merck in Darmstadt eigens zu Stickstoffbestimmungen hergestellt wurde.

[1] Ueber die Anwendbarkeit der Kjeldahl'schen Methode und ihrer Modificationen bei hygienischen Untersuchungen. *Diese Zeitschrift.*



Mit 20 ^{ccm} dieser Schwefelsäure und unter Zusatz von 0·5 ^{grm} chemisch reinem Kupferoxyd wurde das in oben angegebener Weise eingedampfte Abwasser unter Anfangs mässiger, dann langsam gesteigerter Erhitzung so lange digerirt, bis die Flüssigkeit klar und smaragdgrün geworden war, was meistens 1 bis 2 Stunden dauerte. Nach dem Erkalten wurde der Kolbeninhalt mit 200 ^{ccm} Wasser in einen Kochkolben gespült und die sich stark erwärmende Flüssigkeit abermals erkalten gelassen. Nach den möglichst rasch auf einander folgenden Zusätzen von chemisch reinem Zinkstaub und vorsichtigem Darunterschichten von 100 ^{ccm} einer Lösung von einem Theil reinen Natronhydrats in zwei Theilen Wasser (specifisches Gewicht 1·36) wurde der Kochkolben rasch geschlossen, bezw. mit dem Liebig'schen Kühler verbunden und unter allmählicher Erhitzung das Ammoniak abdestillirt. Die Natronlauge wurde vor dem Gebrauche, um sie sicher ammoniakfrei zu haben, längere Zeit erhitzt. Der Zusatz von Zinkstaub geschah, um das unangenehme Stossen beim Kochen zu verhüten.

Das überdestillirende Ammoniak wurde in einen mit 25 ^{ccm} ein Zehntel, in einigen Fällen auch ein Hundertstel Normalschwefelsäure beschickten Erlenmeyer-Kolben eingeleitet. Um sicher alles Ammoniak frei zu machen, wurde so lange destillirt, bis 180 ^{ccm} Wasser übergegangen waren. Nach Proskauer und Zülzer[1] sollte nämlich diese Menge genügen, um sicher zu gehen, dass alles Ammoniak überdestillirt war. Titrirt wurde sodann mit ein Zehntel, bezw. ein Hundertstel Normalnatronlauge, wobei als Indicator 5 Tropfen einer kalt gelösten, concentrirten, wässerigen Congolösung dienten und eine ziegelrothe Farbe das Ende der Reaction anzeigte. In dieser Weise und unter genauer Innehaltung der gleichen Versuchsbedingungen wurden alle Stickstoffbestimmungen ausgeführt. Ausserdem controlirte ich jeden 4. Versuch durch eine Wiederholung desselben. Ebenso wurden des Oefteren die einzelnen Reagentien und das destillirte Wasser auf etwaige stickstoffhaltige Verunreinigungen geprüft. Während im Allgemeinen sich die Reagentien als vollkommen stickstofffrei erwiesen, zeigte sich in einem Falle, dass das destillirte Wasser 0·0007 Procent Stickstoff enthielt. Da durch eine Controlprobe ungefähr die gleiche Zahl constatirt wurde, nämlich 0·0006 Procent, wurde bei den mit diesem Wasser behandelten Versuchen der Durchschnitt, 0·00065 Proc., in Abzug gebracht. Die übrigen Controlversuche zeigten fast immer bis auf die dritte Decimalstelle übereinstimmende Resultate.

Wie schon oben erwähnt, hatten die Vorversuche ergeben, dass sich als chemische Fällungsmittel Magnesiumsulfat, Eisenchlorid und Eisen-

[1] A. a. O. S. 192.

sulfat ganz besonders eigneten. Es sollten deshalb die nun folgenden Versuche an der Hand der soeben ausgeführten Stickstoffbestimmungsmethode über die Leistungsfähigkeit dieser Chemikalien genaueren Aufschluss geben. Der besseren Uebersicht wegen wurden auch diese Versuche tabellarisch zusammengestellt. (Tabelle VII.)

Tabelle VII.

Nr.	Reinigungsverfahren	Sauerstoffverbrauch in mg pro Lit.		Gesammtstickstoff in mg pro Lit.		Beschaffenheit	
		ungereinigt	gereinigt	ungereinigt	gereinigt	ungereinigt	gereinigt
1	Chlormagnesium, Eisenchloridlös. āā 1·0 Kalk 4·0	224·0	73·6 (67·1)	121·8	54·6 (44·8)	trüb, braun, schwach sauer	klar, farblos, alkalisch
2	Chlormagnesium, Eisensulfat, Alaun āā 1·0 Kalk 4·0	143·2	35·6 (75·2)	84·0	52·0 (38)	„	trüb, Filtrat: farblos, alkalisch
3	Salzlösung I: 50 ccm Kalk 4·0	224·0	74·4 (66·8)	117·6	57·4 (51·5)	„	„
4	Magnesiumsulfat, Eisensulfat āā 1·0 Kalk 3·0	143·2	36·4 (75)	84·5	46·2 (45·4)	„	klar, farblos, alkalisch
5	Chlormagnesium, Kaliwasserglas, Eisenchloridlösung āā 1·0 Kalk 4·0	220·0	76·8 (65)	118·6	67·6 (43)	„	opalescirend, gelblich, neutral
6	Chlormagnesium, Natronwasserglas, Eisensulfat āā 1·0 Kalk 4·0	224·0	56·0 (79·5)	120·0	53·4 (55·5)	„	klar, farblos, alkalisch
7	Chlormagnesium, Eisensulfat āā 1·0 Kalk 4·0	111·84	39·6 (64·7)	91·0	39·2 (57)	trüb, braun, neutral u. schon theilweise zersetzt	„
8	Magnesiumsulfat, Eisensulfat āā 1·0 Kalk 4·0	111·84	44·4 (60·5)	91·0	50·4 (44·5)	„	„
9	Chlormagnesium, Ferr. sesquichlorat. sicc. āā 1·0 Kalk 4·0	111·84	31·2 (73)	91·0	38·7 (57·5)	„	„
10	Chlormagnesium, Ferr. sesquichlorat. sicc. āā 1·0 Natronwasserglas 2·0 Kalk 4·0	111·84	34·0 (70)	91·0	36·7 (59·7)	„	„

Die eingeklammerten Zahlen bedeuten den Reinigungswerth in Procenten.



Bei diesen und den späteren Versuchen wurden 30 bis 35 cm hohe und ca. 20 cm weite, cylindrische Glasgefässe benutzt, die ein besseres Beobachten der einzelnen Vorgänge, wie Farbenwechsel, Schäumen, gestatteten, als die bei den Vorversuchen verwandten Bechergläser. Zu jedem Versuche wurden ungefähr 2·5 Liter Wasser in Arbeit genommen, das in folgender Weise hergestellt wurde:

Zu 12 Liter Abwasser wurde 1 kg Kartoffeln mit Wasser unter Zuhülfenahme einer Bürste gereinigt, aber ungeschält durch eine Zermalmungsmaschine getrieben. Der Kartoffelbrei wurde sodann mehrere Stunden unter bisweiligem Umrühren bei Seite gestellt, und endlich das beinahe klare, rothbraun gefärbte Wasser abgegossen. Auch die in der Tabelle VII aufgeführten Reinigungsversuche wurden schon mit dem so hergestellten, sehr concentrirten Abwasser angestellt.

Aus der genannten Tabelle (VII) geht hervor, dass Magnesiumsulfat und Chlormagnesium ungefähr von gleicher Wirkung sind, ferner dass ein Zusatz von Kalium- oder Natronwasserglas, wie er für Zuckerfabrikabwässer empfohlen wird, den Reinigungseffect nicht wesentlich erhöht. Es wurde deshalb bei den späteren Versuchen von diesem Zusatze abgesehen, da derselbe das Verfahren doch nur vertheuern würde.

An der Hand dieser Versuche glaubte ich nun den Beweis erbringen zu können, dass durch chemische Fällungsmittel, wie schon bei Eingang dieser Arbeit bemerkt wurde, nicht nur suspendirte, sondern auch ein grosser Theil von gelösten organischen Stoffen beseitigt wurden. Ich suchte dies in der Weise auszuführen, dass ich bei Versuch Nr. 9 das frisch bereitete Kartoffelabwasser durch ein doppeltes, angefeuchtetes Filter schickte und so ein absolut klares Wasser erhielt. Es wurde sowohl mit dem filtrirten, wie unfiltrirten Wasser das gleiche Reinigungsverfahren vorgenommen. Das Ergebniss war folgendes:

Unfiltrirtes	Abwasser	hatte	ungereinigt:	Stickstoff	in	mg	pro	Liter	91·0
„	„	„	gereinigt:	„	„	„	„	„	38·7
Filtrirtes	„	„	ungereinigt:	„	„	„	„	„	88·2
„	„	„	gereinigt:	„	„	„	„	„	38·56.

Man konnte also durch das betreffende Verfahren ungefähr 58 Procent gelöste organische Stoffe entfernen, bezw. ausfällen. Wie bereits erwähnt, konnte diese Abnahme des Gesammtstickstoffgehaltes in diesem Abwasser nicht von anorganischen Verbindungen herrühren, da dasselbe, wie eine genaue Untersuchung ergab, vollkommen frei war von Salpetersäure, salpetriger Säure und Ammoniak. Die Oxydirbarkeit war sogar bei den so gereinigten Abwässern um ca. 75 Procent gesunken.



Was die Reihenfolge u. s. w. der Zusätze betrifft, so geschah dieselbe mit dem besten Erfolge immer in der Art, dass zuerst die ungefähr einprocentig gelösten Salze und nach 10 Minuten unter bisweiligem Umrühren der mit dem 50fachen Wasser gut angerührte Kalk hinzugegeben wurde. Sodann wurde nochmals etwa 3 bis 5 Minuten hindurch öfters umgerührt und nun ruhig absitzen gelassen. Weitere Versuche über die erforderlichen Mengenverhältnisse der einzelnen Zusätze sind in der Tabelle VIII zusammengestellt. (Vgl. Tabelle VIII.)

Tabelle VIII.

Nr.	Reinigungsverfahren	Sauerstoffverbrauch in mg pro Lit.		Gesammtstickstoff in mg pro Lit.		Beschaffenheit	
		ungereinigt	gereinigt	ungereinigt	gereinigt	ungereinigt	gereinigt
11	Magnesiumsulfat 0·5 Kalk 3·0	379·2	314·4 (17·1)	131·6	98·0 (25·5)	trüb, rothbraun, sauer, Kartoffelgeruch	trüb, gelblichweiss, neutral
12	Magnesiumsulfat 0·5 Kalk 4·0	379·2	300·0 (21)	131·6	95·4 (28)	„	„
13	Magnesiumsulfat 0·5 Kalk 5·0	248·0	150·4 (39·5)	96·88	70·0 (28)	„	etwas heller, schwach alkalisch
14	Chlormagnesium 1·0 Kalk 3·0	248·0	184·8 (25)	104·16	77·0 (26)	„	gelblich, neutral
15	Chlormagnesium 1·0 Kalk 4·0	248·0	185·6 (24·5)	89·6	54·6 (40)	„	beinahe farblos, alkalisch
16	Magnesiumsulfat 2·0 Kalk 3·0	248·0	191·2 (27)	96·5	63·0 (35)	„	schwach gelblich, opalescir., neutral
17	Chlormagnesium 2·0 Kalk 4·0	248·0	181·6 (27)	96·5	62·0 (36)	„	heller, opalescir., alkalisch
18	Magnesiumsulfat 2·0 Kalk 5·0	248·0	203·2 (18·4)	89·6	44·8 (50)	„	zieml. klar, farblos, alkalisch
19	Magnesiumsulfat 1·0 Ferr. sesquichlor. sicc. 0·5 Kalk 3·0	400·0	288·0 (28)	140·0	192·2 (22)	„	schlechtes Absetzen, neutral
20	Magnesiumsulfat 1·0 Ferr. sesquichlor. sicc. 0·5 Kalk 4·0	400·0	248·2 (38)	140·1	105·0 (25)	„	schwach gelblich, klar, alkalisch



Tabelle VIII. (Fortsetzung.)

Nr.	Reinigungsverfahren	Sauerstoffverbrauch in mg pro Lit.		Gesammtstickstoff in mg pro Lit.		Beschaffenheit	
		ungereinigt	gereinigt	ungereinigt	gereinigt	ungereinigt	gereinigt
21	Magnesiumsulfat 1·0 Ferr. sesquichlor. sicc. 0·5 Kalk 5·0	400·0	224·0 (44)	140·1	84·0 (40)	trüb, rothbraun, sauer, Kartoffelgeruch	bedeutend besser, alkalisch
22	Chlormagnesium Ferr. sesquichlor. sicc. āā 1·0 Kalk 3·0	312·0	200·0 (36)	92·4	67·2 (27·4)	„	gelblich, trüb, neutral
23	Magnesiumsulfat 1·0 Ferr. sesquichlor. sicc. 1·0 Kalk 4·0	312·0	125·6 (60)	92·4	53·8 (42)	„	fast klar und farblos, alkalisch
24	Magnesiumsulfat Ferr. sesquichlor. sicc. āā 1·0 Kalk 5·0	312·0	140·0 (54·2)	92·6	58·8 (36·4)	„	„
25	Chlormagnesium, Alaun, Ferr. sesquichlor. sicc. āā 0·2 Kalk 4·0	312·0	251·6 (19·4)	92·5	91·0 (2)	„	trüb, gelblich, alkalisch
26	Chlormagnesium, Alaun, Ferr. sesquichlor. sicc. āā 0·5 Kalk 5·0	312·0	149·6 (52)	92·5	77·0 (17)	„	fast klar, farblos, alkalisch
27	Chlormagnesium, Alaun, Ferr. sesquichlor. sicc. āā 1·0 Kalk 4·0	312·0	155·2 (50·3)	92·4	78·4 (15·2)	„	„
28	Chlormagnesium, Alaun, Ferr. sesquichlor. sicc. āā 1·0 Kalk 5·0	312·0	121·6 (61·1)	92·4	72·8 (22)	„	„

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe bestätigten im Allgemeinen das früher Gesagte. Magnesiumsulfat allein wirkte nicht so gut ausfällend auf die organischen Stoffe, als im Vereine mit einer Eisenverbindung. Bezüglich der erforderlichen Menge schien sowohl Eisenchlorid, wie Magnesiumsulfat zu 0·05 Procent und Kalk zu etwa 0·2 Procent die besten Resultate zu liefern.



Eine weitere Zugabe von Thonerdepräparaten, wie sie auch schon für andere Abwässer vorgeschlagen wurde, schien den Reinigungswerth nur unwesentlich zu erhöhen.

Für die nächsten Versuchsreihen wurden zwei Lösungen hergestellt, von denen die eine 10·0 grm Magnesiumsulfat, 15·0 grm officinelle Eisenchloridlösung und 2·0 ccm officinelle Salpetersäure in 1000 ccm Wasser gelöst enthielt, während die zweite 15·0 grm Eisensulfat, 10·0 grm Magnesiumsulfat und ebenfalls 2·0 ccm officinelle Salpetersäure im Liter enthielt. Die erstere wurde mit Lösung II, die letztere mit Lösung III bezeichnet.

Der Zusatz von Salpetersäure sollte den Zweck haben, die gelösten organischen Stoffe zu oxydiren, bezw. in unlösliche oder schwer lösliche Form überzuführen.

Es sei hier noch bemerkt, dass ich zu meinen bisherigen Versuchen Kalk verwandte, der früher im Grossen gebrannt, allmählich aber wieder an der Luft zerfallen war und theils aus Calciumhydroxyd, theils aus Calciumcarbonat bestand. Dieses weisse Pulver wurde jeweils vor dem Gebrauche in den erforderlichen Quantitäten abgewogen und so lange in der Platinschale stark geglüht, bis es durch die ganze Masse grauweiss gefärbt erschien.

Bei den nun folgenden Versuchen wurden frisch gebrannte Marmorkalkstücke gröblich zerkleinert, die einzelnen Portionen abgewogen und in ca. 100 ccm Wasser eingelegt. Nach 3 bis 4 Stunden waren die grauen Stücke unter Wasser zu einem ganz weissen Pulver zerfallen, welches durch das darüberstehende, vorher ausgekochte und wieder abgekühlte Wasser an der Aufnahme von Kohlensäure aus der Luft verhindert war. Nun wurde die Kalkmilch gleichmässig angerührt und rasch zugesetzt. Der so hergestellte Kalkzusatz war bei Weitem wirksamer, als das jedes Mal frisch geglühte Kalkpulver. (Vgl. Tabelle IX.)

Die Ergebnisse dieser Versuche zeigten, dass ein Zusatz von Salpetersäure nur eine bedeutend grössere Menge Kalk erforderlich machte, aber die oben erwähnten Erwartungen durchaus nicht erfüllte und somit auch den eigentlichen Reinigungseffect nicht erhöhte.

Bei der Herstellung von Kartoffelabwasser aus geschälten Kartoffeln, bei denen also keinerlei Farbstoff mit in Betracht kam, wurde wiederholt beobachtet, dass durch öfteres Umgiessen viel rascher eine Farbenänderung auftrat und klare Abwässer viel schneller trüb wurden, als beim ruhigen Stehen. Ich schloss hieraus, dass durch das häufige Umgiessen die Luft möglicher Weise eine Oxydation der gelösten eiweissartigen Verbindungen hervorgerufen hatte.



Tabelle IX.

Nr.	Reinigungsverfahren	Sauerstoffverbrauch in mg pro Lit.		Gesammtstickstoff in mg pro Lit.		Beschaffenheit	
		ungereinigt	gereinigt	ungereinigt	gereinigt	ungereinigt	gereinigt
29	Lösung II, 10 ccm Kalk 4·0	336·0	208·0 (38)	108·64	91·0 (16·3)	rothbraun, trüb, schwach sauer	gelblich, trüb, alkalisch
30	Lösung II, 20 ccm Kalk 4·0	336·0	286·0 (15)	108·64	81·9 (25)	„	„
31	Lösung II, 50 ccm Kalk 5·0	336·0	129·6 (62)	108·64	58·1 (47)	„	fast farblos, klar, alkalisch,
32	Lösung II, 100 ccm Kalk 10·0	336·0	132·0 (61)	108·64	45·5 (38·1)	„	„
33	Magnesiumsulf. 1·0 grm Eisenchloridlösung 1·5 Kalk 10·0	336·0	104·0 (70)	108·64	48·72 (56)	„	„
34	Magnesiumsulfat 0·5 Eisenchloridlösung 0·5 Kalk 4·0	331·2	209·6 (37)	110·8	80·5 (28)	„	trüb, gelblich, neutral
35	Magnesiumsulfat Eisenchloridlösung āā 0·2 Kalk 4·0	331·2	194·4 (41·3)	110·8	53·2 (52)	„	heller, fast klar, schwach alkalisch
36	Magnesiumsulfat 0·5 Eisensulfat 0·2 Ferr. sesquichlor. sicc. 0·2 Kalk 4·0	331·2	208·0 (37)	110·8	58·8 (47)	„	„
37	Magnesiumsulfat Eisensulfat āā 0·5 Kalk 4·0	331·2	216·0 (35)	110·8	61·6 (45)	„	„
38	Magnesiumsulfat Eisensulfat āā 1·0 Kalk 5·0	331·2	203·2 (38·6)	110·8	54·6 (51)	„	„

Die eingeklammerten Zahlen bedeuten den bewirkten Reinigungseffect in Procenten.

Andererseits erklärte ich mir das schnellere Auftreten einer Trübung dadurch, dass die reichlichere Zufuhr von atmosphärischem Sauerstoff das Wachsthum der in dem Wasser ohnehin schon zahlreich vorhandenen Zersetzungsorganismen begünstigte und so die Flüssigkeit rascher bakterientrüb wurde. Jedenfalls schien es mir nicht unmöglich, durch künstliche grössere Zufuhr von Sauerstoff die gelösten organischen Stoffe in einen



labileren und somit für die Wirkung von chemischen Fällungsmitteln empfänglicheren Zustand zu bringen. Um mich hiervon überzeugen zu können, musste ich eine Vorrichtung treffen, die es ermöglichte, die ungereinigten Abwässer möglichst fein zu vertheilen, wodurch eine grosse der Luft zugängliche Oberfläche des Wassers geschaffen werden sollte.

Zu diesem Zwecke liess ich ein 1·50 ^{m} hohes und 1·20 ^{m} breites, wellig gebogenes Netz von verzinktem Eisendraht bauen, das eine Maschenweite von 0·35 ^{cm} hatte. An diesem Drahtnetz war oben eine Einlaufrinne und unten eine Ablaufrinne mit einem Abflussrohre angebracht. Das Ganze wurde mittels eines hölzernen Gestelles ungefähr 35 ^{cm} über der Erde angebracht, um ein Gefäss darunter stellen zu können. Das ungereinigte Abwasser wurde nun in einem grösseren Gefässe etwas höher, als die Einlaufrinne war, aufgestellt und mittels einer Heberöhre in die Rinne laufen gelassen. Diese Rinne war mit sehr vielen kleinen Oeffnungen versehen worden, so dass die Flüssigkeit durch die Rinne hindurchfloss und sich über die ganze Fläche des Drahtnetzes ausbreitete. Von dem Drahtnetze träufelte das Abwasser allmählich in die Ablaufrinne und floss von hier durch das Abflussrohr in das untergestellte Glasgefäss.

Das Herablaufenlassen wurde immer 5 Mal wiederholt. Schon beim 3. Male konnte man deutlich den oben beschriebenen Farbenwechsel wahrnehmen. Es wurden alsbald 8 Versuche mit einem und demselben Abwasser angestellt, so zwar, dass 4 nach 5 maliger „Aerirung“ und 4 andere ohne dieselbe mit den gleichen Chemikalien behandelt wurden. (Vgl. Tabelle X.)

Wie die nachstehende Tabelle erkennen lässt, schien es in der That, als ob ein nicht unerheblicher Unterschied an Reinigungseffect bestand, ob eine vorangegangene gründliche Lüftung der Abwässer stattgefunden hat oder nicht. Die Lösungen II und III fanden deshalb zu diesen Versuchen Anwendung, weil angenommen werden konnte, dass die Salpetersäure bei diesem Verfahren viel besser zur Geltung kommen konnte, als bei den nicht aërirten Abwässern. Eine Wiederholung derartiger Versuche bestätigte leider nicht vollständig die guten Resultate der vorigen Tabelle. Ob der Fehler von anderen Zufälligkeiten kam, oder ob die Art der Chemikalien, namentlich das Fehlen der Salpetersäure, die Ursache waren, konnte nicht entschieden werden, insbesondere, da bei allen Versuchen die minimalste, manchmal unvermeidliche Aenderung der Versuchsbedingungen, z. B. ein anderer Kalk, kleine Fehler bedingte.

Auf die Oxydirbarkeitsbestimmung wurde bei den nächsten Versuchen verzichtet.



Tabelle X.

Nr.		Reinigungsverfahren	Sauerstoffverbrauch in mg pro Lit.		Gesammtstickstoff in mg pro Lit.		Beschaffenheit	
			ungereinigt	gereinigt	ungereinigt	gereinigt	ungereinigt	gereinigt
39	Ohne Aërirung	Lösung II, 50 ccm Kalk 5·0	410·0	210·4 (49)	100·38	58·1 (42·2)	rothbraun, trüb, schwach sauer.	nahezu klar und beinahe farblos, schwach alkalisch.
40	Ohne Aërirung	Lösung III, 50 ccm Kalk 5·0	410·0	223·2 (46)	100·38	59·5 (41)		
41	Ohne Aërirung	Ferr. sesquichlor. sicc. 0·5 Magnesiumsulfat 0·5 Kalk 5·0	410·0	189·6 (54)	100·38	68·6 (32)		
42	Ohne Aërirung	Eisenchloridlösung 0·5 Magnesiumsulfat 0·5 Kalk 5·0	410·0	182·4 (56)	100·38	56·0 (44·3)		
43	Mit Aërirung	Lösung II, 50 ccm Kalk 5·0	410·0	152·8 (63)	100·38	45·5 (55)		
44	Mit Aërirung	Lösung III, 50 ccm Kalk 5·0	410·0	144·0 (65)	100·38	49·0 (51)		
45	Mit Aërirung	Ferr. sesquichlor. sicc. Magnesiumsulfat āā 0·5 Kalk 5·0	410·0	162·0 (60·5)	100·38	49·0 (51)		
46	Mit Aërirung	Eisenchloridlösung Magnesiumsulfat āā 0·5 Kalk 5·0	410·0	165·2 (60)	100·38	39·2 (61)		

Die eingeklammerten Zahlen bedeuten die erzielte Reinigung in Procenten.

Es sollten mit diesem Aërirungsverfahren auch andere chemische Fällungsmittel geprüft werden, da die Möglichkeit nicht ausgeschlossen schien, dass gewisse Chemikalien, die bisher mehr oder weniger versagt hatten, durch die Aërirung der Abwässer in ihrer Wirkung verstärkt würden. Es waren dies das Aluminiumsulfat und das Röckner-Rothe-Patentmittel, welche beide sich bisher in der Schmutz- und Fabrikabwasserreinigung bewährt hatten.

Einen Ueberblick dieser Versuchsreihe bietet Tabelle XI.

Diese zweiten Versuche mit aërirtem Abwasser zeigten, wie bereits angedeutet wurde, nicht so auffallend, dass die Reinigung durch eine vorausgegangene Aërirung erleichtert wird. Eigenthümlich erschien, dass Aluminiumsulfat, Magnesiumsulfat und Eisensulfat zusammen nicht so viel vermochten, wie die gleiche Menge der beiden letzteren allein. Ebenso

wenig konnte ich mir erklären, weshalb durch die doppelte Menge des Zusatzes an chemischen Fällungsmitteln nicht auch ein entsprechend höherer Reinigungseffect erzielt wurde.

Tabelle XI.

Nr.		Reinigungsverfahren	Gesammtstickstoff in mg pro Liter		Beschaffenheit	
			ungereinigt	gereinigt	ungereinigt	gereinigt
47	Ohne Aerirung	Aluminiumsulfat, Eisensulfat, Magnesiumsulfat āā 0·2 Kalk 4·0	68·2	36·4 (47)	gelbbraun, trüb, schwach sauer, Kartoffelgeruch	trüb, fast farblos, alkalisch
48		Eisensulfat, Magnesiumsulfat āā 1·0 Kalk 4·0	68·2	28·0 (59)	„	ebenso, aber fast klar
49		Eisensulfat, Magnesiumsulfat āā 1·0 Kalk 4·0	68·2	29·4 (57)	„	„
50		Roeckner-Rothe Patentmittel 1·0 Kalk 4·0	68·2	29·2 (57·2)	„	„
51		Liquor ferri sesquichlorati, Aluminiumsulf., Eisensulf., Magnesiumsulfat āā 0·2 Kalk 5·0	68·2	24·5 (64)	„	klar, farblos, alkalisch
52		Liquor ferri sesquichlorati, Aluminiumsulf., Eisensulf., Magnesiumsulfat āā 0·3 Kalk 5·0	68·2	36·4 (47)	„	trüb, fast farblos, alkalisch
53		Chlorkalk 0·5, Aluminiumsulfat, Eisensulfat āā 0·5 Kalk 4·0	68·2	Die Bestimmung ging verloren	„	„
54	Mit Aerirung	wie Nr. 47	68·2	32·2 (53)	„	klar, farblos, alkalisch
55		wie Nr. 48	68·2	25·9 (62·1)	„	„
56		wie Nr. 49	68·2	28·0 (59)	„	„
57		wie Nr. 50	68·2	29·45 (57)	„	„
58		wie Nr. 51	68·2	30·8 (55)	„	„
59		wie Nr. 52	68·2	Die Bestimmung ging verloren	„	„
60		wie Nr. 53	68·2	33·6 (51)	„	„

Die rechts eingeklammerten Zahlen bedeuten die erzielte Reinigung in Procenten.



Wie das Ergebniss von Nr. 50 zeigt, scheint das Röckner-Rothe'sche Patentmittel auch für Stärkefabrikabwässer ein nicht ungeeignetes Reinigungsmittel zu sein. Bei Nr. 53 geschah ein Zusatz von Chlorkalk, um zu constatiren, ob derselbe genügte, eine Zersetzung der gereinigten Abwässer zu verhindern. Es stellte sich auch heraus, dass nach 4 Wochen bei diesem Abwasser noch keine Fäulniss aufgetreten war.

Die gereinigten Abwässer Nr. 48, 49, 50, 51 wiesen nach 8 tägigem Stehen bei Zimmertemperatur noch keinen faulen Geruch auf, während Nr. 47 und Nr. 52 in dieser Zeit sich vollkommen zersetzt hatten. Die ärirten Abwässer unterschieden sich in dieser Beziehung kaum merklich von den nicht aërirten.

Da angenommen wurde, dass die erforderliche Quantität chemischer Fällungsmittel nicht mit der Menge des Abwassers in gleichem Verhältnisse zunehme, wie es sich umgekehrt vielfach gezeigt hatte, wurde ein Versuch im Grossen gemacht.

Derselbe sollte zeigen, ob einer der im Kleinen gut ausgefallenen Versuche sich im Grossen auch bewährte, und andererseits, ob die erforderlichen Mengen der Chemikalien sich für die Praxis nicht zu theuer stellten.

Zu diesem Zwecke liess ich einen flachen Holzbottich bauen, der einen sehr grossen Durchmesser hatte, aber nur 30 cm hoch war. Ich wählte diese Form, um die Verhältnisse im praktischen Betriebe, wie sie mit Klärbassins im Gebrauche sind, möglichst nachzuahmen. An einer Seite waren schief über einander von 5 zu 5 cm Löcher gebohrt, so dass man das über dem Niederschlage stehende Wasser bequem in beliebiger Höhe abfliessen lassen konnte. Dieser Holzbottich fasste nahezu angefüllt 550 Liter Wasser. Das Kartoffelstärkeabwasser wurde so hergestellt, dass ein Centner Kartoffeln sorgfältig gewaschen, dann zu einem Brei verstampft und mit Wasser angerührt, mehrere Stunden stehen gelassen wurde. Das klare Abwasser wurde in den oben beschriebenen Holzbottich abgegossen und der Kartoffelbrei von Neuem wieder mit frischem Wasser angerührt. Dieses Verfahren wurde so oft wiederholt, bis 500 Liter Abwasser hergestellt waren. Auf diese Art glaubte ich am besten die Kartoffeln an wasserlöslichen Stoffen zu erschöpfen. Das fertige Abwasser stellte eine fast klare, dunkelrothbraun gefärbte Flüssigkeit dar, die stark schäumte, schwach sauer reagirte und intensiv nach frischen Kartoffeln roch. Zur Reinigung dieses Kartoffelabwassers wählte ich die Fällungsmittel, die sich bei allen meinen Versuchen am besten bewährt hatten, nämlich Magnesiumsulfat, Eisensulfat und officinelle Eisenchloridlösung. Von jedem dieser drei Körper wurden 30 grm genommen und alle drei in 2 Liter Wasser gelöst. Nachdem diese Lösung mit dem Abwasser gründ-



lich vermischt war, wurden nach etwa einer halben Stunde 200 ^{grm} frisch gebrannter Kalk, der in der früher beschriebenen Weise mit 2 Liter Wasser angerührt war, zugesetzt.

Sofort entstand ein starker, grossflockiger Niederschlag, der sich in kurzer Zeit leicht absetzte. Nachdem der Niederschlag noch 3 Mal aufgerührt worden war, wurde nach ungefähr 3 Stunden dem obersten Röhrchen eine Probe entnommen. Das so gereinigte Wasser war klar, aber noch gelb gefärbt. Die chemische Untersuchung ergab Folgendes:

Ungereinigtes Abwasser:	Sauerstoffverbrauch	in	mg	pro	Liter	626·4
	Gesammtstickstoff	„	„	„	„	189·2
Gereinigtes Abwasser:	Sauerstoffverbrauch	„	„	„	„	380·0
	Gesammtstickstoff	„	„	„	„	139·6.

Es wurde also der Sauerstoffverbrauch nur um ca. 40 Procent und der Stickstoffgehalt sogar nur um 27 Procent reducirt. Dieses eigentlich wenig günstige Resultat kam wahrscheinlich von der viel zu hohen Concentration, die bei natürlichen Stärkeabwässern wohl nie erreicht werden wird. Das gereinigte Wasser zeigte nach 14tägigem Stehen bei 20 bis 30° einen stark fauligen Geruch. Die Reinigungskosten wurden bei diesem Verfahren auf etwa 3·6 Pfennige pro Cubikmeter bezeichnet.

Nun wurde noch ein zweiter Versuch unter den gleichen Verhältnissen gemacht, aber mit einem weniger concentrirten Abwasser. Ausserdem kam die doppelte Menge an Chemikalien, also je 60 ^{grm}, zur Verwendung. Die Ergebnisse dieses Versuches waren bedeutend günstiger.

Ungereinigtes Abwasser:	Sauerstoffverbrauch	in	mg	pro	Liter	342·4
	Gesammtstickstoff	„	„	„	„	116·8
Gereinigtes Abwasser:	Sauerstoffverbrauch	„	„	„	„	121·7
	Gesammtstickstoff	„	„	„	„	56·1.

Bei diesem Verfahren würden sich die Kosten auf etwa 7 Pfennige pro Cubikmeter belaufen.

Während beim ersteren Versuche nur ungefähr 27 Procent organische Stoffe ausgefällt wurden, war der Reinigungseffect des letzteren Versuches 52 Procent.

Ob bei dem Preise von 7 Pfennigen und bei dem zuletzt constatirten Erfolge das angegebene Verfahren für die Praxis genügt, gleichzeitig aber auch rentabel wäre, könnte nur durch öftere praktische Versuche in Kartoffelstärkefabriken mit natürlichem Abwasser entschieden werden. In beiden Versuchen wurde ein Theil des Abwassers, sowohl vor, als nach der Reinigung, mittels des Drahtnetzes ärirt, wodurch eine wesentliche Besserung aber nicht erzielt werden konnte. Obwohl das geklärte Ab-

wasser des zweiten Versuches vollkommen farblos und klar war, trat dennoch in demselben nach 14tägigem Stehen bei ca. 18° eine übelriechende Zersetzung auf.

Hieran anschliessend möchte ich noch bemerken, dass bei allen meinen Versuchen, die nicht mehr als 60 Procent der eiweissartigen Stoffe auszufällen vermochten, so lange keine Trübung oder gar Zersetzung auftrat, als noch Calciumhydroxyd in den Abwässern gelöst war. Sobald aber alles $Ca(OH)_2$ an der Luft in $CaCO_3$ übergegangen war, was immerhin bei dem verhältnissmässig grossen Ueberschusse 8 bis 14 Tage dauerte, zersetzte sich die Flüssigkeit sehr rasch. Es lag das offenbar daran, dass alle Bakterien durch die Ausfällung mit niedergerissen wurden und durch das gelöste $Ca(OH)_2$ im Wachsthume gehemmt waren, aber nicht getödtet wurden.

Enthielt nun aber die über dem Niederschlage stehende Flüssigkeit kein $Ca(OH)_2$ mehr, war also aller Kalk als $CaCO_3$ unlöslich zu Boden gefallen, so entwickelten sich die in dem Schlamme bis dahin geschützten Organismen rasch und bewirkten die fast immer beobachtete Zersetzung.

Bei den nicht behandelten Abwässern wurde stets ein derartiger Zerfall der organischen Substanz schon nach ca. 24 Stunden, bisweilen sogar noch früher bemerkt. Derselbe war von einem sehr widerlichen Geruch begleitet. Im gleichen Maasse, wie diese Zersetzung zunahm, wurde das Abwasser unter Abscheidung eines gelbbraunen Bodensatzes immer heller an Farbe. Die so auf natürlichem Wege nahezu entfärbten Abwässer enthielten in der That, wie mehrere Versuche zeigten, nahezu 70 Procent weniger organische Stoffe, als im frischen Zustande. Es wurden also offenbar durch die Thätigkeit von Organismen die gelösten organischen Stoffe zur Ausscheidung gebracht.

Bei Brüttemperatur konnte diese Wirkung sogar schon in viel kürzerer Zeit erreicht werden.

Es wurden nun Versuche gemacht, die Thätigkeit der Organismen insofern für die praktische Stärkeabwässerreinigung zu verwerthen, als, wie schon Eingangs dieser Arbeit bemerkt wurde, in Zersetzung begriffene Abwässer der chemischen Reinigung viel zugänglicher sind, als frisch bereitete. In Folge dessen wurden dann auch erheblich geringere Mengen von Chemikalien gebraucht.

Zunächst wurde ein Kartoffelabwasser, welches aus 250 ^{grm} Kartoffeln (auf 2·5 Liter Flüssigkeit) hergestellt war, in 6 Portionen getheilt, jede Portion zu 400 ^{ccm}. Es sollte nun dieses rothbraune, schwach sauer reagirende, frische Kartoffelabwasser mit einem alten verfaulten Abwasser, das einen rothbraunen Bodensatz von ungefähr 0·4 ^{cm} Höhe hatte, inficirt werden. Die einzelnen Proben wurden mit verschiedenen Quantitäten des

faulen Wassers versetzt und bei verschiedenen Temperaturen unter Beobachtung der Zeit aufgestellt.

Ebenso wurden auch zwei Controlproben ohne den erwähnten Zusatz sowohl bei Zimmertemperatur als im Brütschranke bei 37° aufbewahrt.

Nach 12 Stunden wurden alle 6 Proben gröblich durch Watte filtrirt und das Filtrat auf seinen Gesammtstickstoffgehalt geprüft. Auch hier konnten ausser Spuren von Ammoniak keine organischen Stickstoffverbindungen nachgewiesen werden, so dass der Stickstoffgehalt nur den organischen, eiweissartigen Verbindungen entstammen konnte. Die Ergebnisse dieser Versuche sind, wie folgt, tabellarisch zusammengestellt. (Tabelle XII.)

Tabelle XII.

Nr.	Behandlungsweise	Temperatur	Stickstoffgehalt incl. des betr. Zusatzes in mg pro Lit. sofort	Stickstoffgehalt incl. des betr. Zusatzes in mg pro Lit. nach 12 Std.	Beschaffenheit	
					sofort	nach 12 Stunden
61	400 ccm frisch bereitetes Abwasser werden mit 20 ccm faulem Abwasser versetzt	17°	91·7	56·3 (38·6)	rothbraun, trüb, schwach sauer	gelblich, trüb, brauner Bodensatz, neutral
62	desgl. bei	37°	91·7	24·0 (73·8)	desgl.	hellgelb, trüb, brauner Bodensatz, neutral
63	400 ccm frisch bereitetes Abwasser werden mit 50 ccm faulem Abwasser versetzt	17°	91·3	28·0 (69·4)	desgl.	fast farblos, trüb, neutral
64	desgl. bei	37°	91·3	22·1 (75·8)	desgl.	desgl.
65	Controle ohne Zusatz b.	17°	90·3	82·0 (9·2)	schwach opalescir., rothbraun, schwach sauer	braun, trüb, neutral
66	desgl. bei	37°	90·3	70·0 (22·5)	desgl.	braun, trüb, neutral

Aus vorstehender Tabelle ersieht man leicht, dass thatsächlich durch Infection mit faulem Abwasser sehr viel rascher frische Kartoffelabwässer in das gewünschte Stadium der Zersetzung zu bringen sind. Die Versuche zeigen ferner, dass schon nach 12stündigem Stehen bei Zimmertemperatur durch die Zersetzungsbakterien je nach der Stärke der Infection (5 oder 12 Procent) 38 bis 69 Procent der organischen Stoffe ausgeschieden werden. Es wäre also durch dieses Verfahren die Möglichkeit gegeben, die Stärkefabrikabwässer, die frisch aus der Fabrik kommen, in einem



entsprechend grossen Bassin mit einem Zusatze von zersetztem alten Abwasser zu inficiren und einige Stunden stehen zu lassen. Es würde dann die Reinigung mit chemischen Fällungsmitteln sehr viel leichter und vollständiger vor sich gehen und somit auch bedeutend geringere Kosten verursachen.

Eine bakteriologische Untersuchung, die feststellen soll, welche Organismen es sind, die eine Zersetzung des Kartoffelabwassers bewirken, ist noch im Gange. Es schien mir nämlich nicht ausgeschlossen, mittels einer Reincultur der betreffenden Bakterien noch rascher zum Ziele zu kommen, als durch ein Gemisch von solchen, da für viele andere Fälle nachgewiesen ist, dass manche Bakterienarten das Wachsthum anderer zu hemmen im Stande sind.

Ich gedenke, die Ergebnisse dieser bakteriologischen Untersuchung, sowie die praktischen Versuche in Fabriken später bekannt zu geben.

Schluss.

Die Ergebnisse der vorstehenden Arbeit möchte ich in folgenden Sätzen zusammenfassen:

1. Weder eine Oxydirbarkeitsprüfung, noch eine Rückstandsbestimmung eignet sich zur richtigen Beurtheilung des Reinigungsverfahrens von Stärkeabwässern.

2. Nur eine Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl ist zu diesem Zwecke sehr werthvoll, weil sie auch bei sehr geringem Stickstoffgehalte zuverlässige Resultate giebt.

3. Je reicher ein Kartoffelstärkeabwasser an gelösten organischen Stoffen ist, um so mehr schäumt es beim Schütteln.

4. Durch geeignete Zusammenstellung chemischer Fällungsmittel, wie Magnesiumsulfat, Eisenchlorid und Eisensulfat, zu ungefähr 0·01 Procent und darauf folgenden Zusatz von Kalkhydrad bis zur Alkalescenz ist es möglich, in Stärkeabwässern von nicht zu starker Concentration nicht nur alle suspendirten, sondern auch mindestens 50 Procent der gelösten organischen Stoffe zur Ausscheidung zu bringen.

5. Durch Aëriren der Stärkefabrikabwässer wird im Allgemeinen der Reinigungseffect nur unbedeutend erhöht.

6. Ein in Zersetzung begriffenes Abwasser ist der chemischen Reinigung bedeutend zugänglicher, als ein frisch bereitetes.

7. Die Kosten für die chemische Reinigung der Kartoffelstärkeabwässer belaufen sich pro Cubikmeter auf ca. 7 Pfennige.



8. Es ist möglich, diese Kosten nach dem oben besprochenen Verfahren etwa auf die Hälfte zu reduciren (also 3·5 Pfennige pro Cubikmeter).

Die vorliegende Arbeit wurde auf Veranlassung und unter Leitung des Hrn. Geh. Medicinalraths Prof. Dr. Löffler im hygienischen Institute der Universität Greifswald angefertigt. Es sei mir hier gestattet, Hrn. Geheimrath Löffler für die Unterstützung und Rathschläge bei diesen Versuchen meinen wärmsten Dank auszusprechen.

Bemerkungen zu der Arbeit:

„Ueber die Filtrationskraft des Bodens und die Fortschwemmung von Bakterien durch das Grundwasser."

Versuche von Abba, Orlandi und Rondelli.[1]

Von

Prof. **E. Pfuhl**
in Berlin.

Zur Lösung der Frage, ob ein bereits vorhandener Brunnen, eine Quellfassung oder eine Sickergallerie Zuflüsse von verunreinigtem Grundwasser erhält, sind verschiedene Methoden ausgearbeitet worden. Eine zusammenfassende Uebersicht findet sich in der Arbeit von Gärtner: „Ueber Methoden, die Möglichkeit der Infection eines Wassers zu beurtheilen," welche in der Festschrift zur 100 jährigen Stiftungsfeier des Friedrich-Wilhelms-Institutes 1895 veröffentlicht worden ist. Ein von den üblichen Prüfungsmethoden abweichendes Verfahren habe ich seit dem Jahre 1895 bei Brunnen in solchen Fällen angewandt, wo ich wusste, dass die oberste Grundwasserschicht mit Bakterien verunreinigt war. Nachdem ich das Grundwasser an einer Stelle der Umgebung des Brunnens freigelegt hatte, mischte ich eine Prodigiosus-Bouilloncultur hinzu und prüfte, ob beim starken Pumpen der Prodigiosus in den Brunnen hineingesogen werden würde.

Zuerst übte ich dieses Verfahren bei meinen Laboratoriums-Untersuchungen[2] über die Verunreinigung der Grundwasserbrunnen von unten her, die ich im Jahre 1895 veröffentlicht habe. Noch in demselben Jahre konnte ich nachweisen, dass ein Abessinierbrunnen[3] ein mit Prodigiosus ver-

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXI.

[2] *Ebenda.* Bd. XXI.

[3] Mitgetheilt in meiner Arbeit: Ueber die Verschleppung der Bakterien durch das Grundwasser. *Ebenda.* Bd. XXV.



unreinigtes Wasser gab, wenn ich 3·7 m aufwärts die oberste Grundwasserschicht freilegte und eine Prodigiosuscultur beimischte. Abba, Orlandi und Rondelli haben nun im Jahre 1896, als sie die Filtrationskraft des Bodens oberhalb und zu beiden Seiten der Filtergallerie der Turiner Wasserleitung zu prüfen hatten, nicht erst das Grundwasser freigelegt, sondern die Prodigiosuscultur direct auf die Bodenoberfläche ausgegossen und gleichzeitig die Versuchsstelle überschwemmt. Dann haben sie darauf geachtet, ob der Prodigiosus mit den einsickernden Wässern bis in eine Filtergallerie gelangte. Wie sie angeben, sind dabei die Bakterien durch das Grundwasser bis zu 200 m weit fortgeschwemmt worden. Diese Versuche sind meiner Meinung nach besonders deshalb lehrreich, weil sie zeigen, wie sehr die Sickergallerieen der Wasserleitungen, die mit Vorliebe im diluvialen Kies der Flussthäler angelegt werden, der Verunreinigung ausgesetzt sind, wenn sie überschwemmt werden, während bei andauernden Regengüssen die Gefahr der Verunreinigung sehr viel geringer ist. Ich glaube diese wichtige Schlussfolgerung besonders hervorheben zu müssen, da die Verfasser in ihren Schlussfolgerungen hierauf nicht hingewiesen haben, sondern nur vom Einfluss der „künstlich auf das Terrain der Gallerieen (zwecks Vermehrung des Wassers in denselben) geleiteten Wässer“ sprechen. Dagegen sind die Verfasser auf meine im Jahre 1896 angestellten Versuche: „Ueber die Verschleppung von Bakterien durch das Grundwasser“ näher eingegangen, die ich im Jahre 1897 in dieser Zeitschrift, Bd. XXV, veröffentlicht[1] habe.

Da ich den Eindruck habe, als ob die Verfasser manches in meiner Arbeit übersehen haben, so halte ich es für angezeigt, mit einigen kurzen Bemerkungen die Sache klar zu stellen.

[1] Abba, Orlandi und Rondelli haben über ihre Versuche schon im Juli 1896 einen Bericht in der *Gazetta medica di Torino*, Nr. 28 und darauf, wie sie selbst angeben, einen kurzen Auszug aus demselben „ebenfalls in demselben Jahre“, in Wirklichkeit aber im folgenden Jahre, im *Centralblatt für Bakteriologie*, Bd. XXI, S. 824, veröffentlicht. Als ich im Jahre 1897 meine Arbeit über die Verschleppung der Bakterien durch das Grundwasser veröffentlichte, kannte ich nur das Referat im *Centralblatt für Bakteriologie* und daraus auch den Titel der italienischen Originalarbeit: „Saggio di esperienze sul potere filtrante dei terreni.“ Weder aus dem Titel der Originalarbeit, noch aus dem Referat habe ich ersehen können, dass die Verfasser Versuche über die Verschleppung von Bakterien durch das Grundwasser angestellt hatten, denn das Referat handelte nur von den Versuchen über die Filtrationskraft des Bodens. Den Bericht über ihre Verschleppungsversuche haben sie den deutschen Lesern erst durch ihre Veröffentlichung in Bd. XXXI *dieser Zeitschrift* zugänglich gemacht. So ist es erklärlich, dass ich zur Zeit der Veröffentlichung meiner Arbeit ihre Verschleppungsversuche noch nicht kannte.



Nachdem die Verfasser über meine im Jahre 1896 ausgeführten Untersuchungen berichtet haben, fahren sie fort: „dieselben Versuche machte er dann mit Abessinierbrunnen“. Hiernach könnte es scheinen, als ob ich diese Versuche erst später angestellt hätte. Doch habe ich in meiner Arbeit ausdrücklich gesagt: „diese Versuche sind schon im Sommer 1895 ausgeführt“. Sie sind also auch bereits vor den Untersuchungen der italienischen Forscher vorgenommen worden.

Am Schlusse der Mittheilung meiner Versuche sagen die Verfasser: „Wie man sieht, sind dieselben im Wesentlichen sogen. Laboratoriumsversuche, aus denen er selbst keine praktischen Schlüsse gezogen hat.“

Warum meine Versuche, die ich am Grundwasser im gewachsenen Boden angestellt habe, als sogen. Laboratoriumsversuche anzusehen sind, ist mir nicht ohne Weiteres klar. Mit demselben Recht könnte man auch die Versuche der italienischen Forscher als sogen. Laboratoriumsversuche ansehen.

Was die Bemerkung anlangt, dass ich aus meinen Versuchen keine praktischen Schlüsse gezogen hätte, so möchte ich auf folgende Stelle in meiner Arbeit hinweisen: „Was für die leuchtenden Vibrionen gilt, dürfte auch für die Choleravibrionen zutreffen u. s. w.“ „In Folge dessen halte ich es für bedenklich, dass z. B. bei dem Sammelbrunnen eines Wasserwerkes, das ich im Elsass kennen gelernt habe, in 14 m Entfernung ein Bach vorbeifliesst, der weiter oberhalb die Abwässer gedüngter Aecker aufnimmt.“

Das sind doch Schlüsse, die auf die Praxis Rücksicht nehmen. Vielleicht haben die italienischen Forscher meine Versuche deshalb als Laboratoriumsversuche bezeichnet, weil sie es nicht für genügend begründet hielten, dass ich bei meinen Verschleppungsversuchen die Bakterien nicht auf die Bodenoberfläche, sondern in das freigelegte Grundwasser einsäte und den Grundwasserstrom durch Pumpen beschleunigte. Darauf deuten ihre Worte hin: „Wenn wir, wie Pfuhl es gethan hat, aufwärts von den Filtergallerieen eine Grube bis zur Freilegung des Wassers ausgeworfen, hier die Bakterien hineingesät und dann von den Gallerieen aus einen beschleunigten Zufluss von Wasser bewirkt hätten, so würde uns dies wie ein wenig Interesse bietender Versuch vorgekommen sein, denn wir würden uns in zu künstliche Verhältnisse gesetzt, wir würden einen zu directen Verbindungsweg geschaffen haben. Es schien uns, und derselben Ansicht sind wir auch heute noch, dass, wie sehr auch ein Grundwasserstrom pathogene Keime selbst auf grosse Strecken zu verschleppen vermag, dies an und für sich noch keinen schweren Uebelstand ausmache, wenn die Beschaffenheit des darüber gelegenen Bodens dessen Verunreinigung nicht gestattet.“



Hierauf habe ich zu erwidern, dass bereits aus den ersten Sätzen meiner Arbeit zu ersehen ist, weshalb ich ein anderes Verfahren eingeschlagen habe, als die italienischen Forscher. Diese Sätze lauten:

„Nachdem ich mich durch eigene Untersuchungen überzeugt hatte, dass an manchen Stellen der mittelrheinischen Ebene eine Verunreinigung der obersten Grundwasserschichten mit Bakterien vorkommt, unternahm ich es, festzustellen, ob und wieweit die in das Grundwasser hineingelangten Bakterien mit dem Grundwasserstrom weitergeschleppt werden können. Die Wichtigkeit dieser Frage hat man schon längst erkannt. Hängt es doch von der Entscheidung derselben ab, ob eine Verunreinigung von Grundwasserbrunnen eintreten kann, wenn weiter aufwärts Bakterien in das Grundwasser hinein gelangen." Dies kann z. B. von undichten Senkgruben, Schwindgruben, undichten Canalisationsröhren und Gullies aus geschehen. Es wird doch Niemand leugnen, dass es von Interesse ist, zu erfahren, ob von solchen Stellen aus die in's Grundwasser gelangten Bakterien weiter fortgeschleppt werden können, da sich oft schon in geringer Entfernung Brunnen befinden, welche die Strömung des Grundwassers beschleunigen, wenn ihr Wasserspiegel durch Pumpen abgesenkt wird. Es entsprach deshalb gerade den wirklichen Verhältnissen, wenn ich bei meinen Versuchen die Bakterien direct der obersten Grundwasserschicht zusetzte und durch Pumpen eine schnellere Strömung des Grundwassers herbeiführte. Eine Beschleunigung des Grundwasserstromes ist übrigens auch bei den Versuchen der italienischen Forscher vorhanden gewesen, da doch das Wasser aus den Filtergallerieen fortwährend abfloss, beim 4. Versuch sogar ein grosser Theil des Wassers der rechten Gallerie, sowie das der linken Gallerie abgelassen wurde. Durch das Ablaufen des Wassers musste doch eine Absenkung des Grundwasserspiegels und damit eine schnellere Zuströmung des Grundwassers von den Seiten her nach der Filtergallerie erfolgen. Ausserdem beschleunigten die Verfasser noch dadurch die Fortschwemmung der Bakterien, dass sie das Versuchsgelände bis 10 ^{cm} hoch überschwemmten.

Was die absprechenden Bemerkungen der 3 Forscher über meine Empfehlung des leuchtenden Vibrio anbetrifft, so erscheint es mir fraglich, ob sie auf Grund eigener Versuche zu diesem Urtheil gekommen sind.

Wenn die Verfasser glauben, dass sie für den Nachweis einer Verunreinigung der Filtergallerieen von der Oberfläche des Quellengebietes den einzuschlagenden Weg angegeben haben, so möchte ich darauf hinweisen, dass man schon früher andere Wege kannte, wie ich am Anfang dieser Arbeit angegeben habe. Man braucht z. B. nur neben den Filtergallerieen Abessinierbrunnen einzuschlagen, um nach der Desinfection



derselben festzustellen, ob das zu den Gallerieen strömende Grundwasser Bakterien enthält oder nicht.

Das letztere Verfahren ist fast immer anwendbar, auch im diluvialen Kiesboden der Flussthäler, während das Verfahren der italienischen Forscher eigentlich nur für die Fälle passt, wo die Gefahr einer Verunreinigung durch Ueberschwemmung in Frage kommt. Doch erscheint es fraglich, ob die Einwohner der betreffenden Stadt die Verunreinigung ihrer Wasserleitung mit Prodigiosus und anderen Bakterien sich während der Versuche werden gefallen lassen. Jedenfalls müsste dafür gesorgt werden, dass nicht neben dem Prodigiosus noch infectiöse Bakterien in die Wasserleitung gelangen.

Das von mir benutzte Verfahren ist besonders für die Fälle geeignet, wo man sich darüber unterrichten will, wie weit in einem Boden von bestimmter Beschaffenheit die Bakterien durch das Grundwasser fortgeschleppt werden können. Dies kann z. B. dann in Frage kommen, wenn bestimmt werden soll, wie weit von einer schon vorhandenen Senkgrube oder von der Grenze des Nachbargrundstückes entfernt ein neuer Brunnen angelegt werden soll. Der Versuch braucht dann gar nicht einmal an derselben Stelle vorgenommen zu werden, wo nachher der Brunnen gebaut werden soll, sondern kann auch in einiger Entfernung an einer geeigneten Stelle stattfinden, wo der Boden von der gleichen Beschaffenheit ist.



Ein neues Verfahren zur Züchtung des Tuberkelbacillus.

Von

Bezirksarzt Dr. **W. Hesse**
in Dresden-Strehlen.

Die schnelle und sichere Erkennung der Anwesenheit lebender und vermehrungsfähiger Tuberkelbacillen in Organen, Geweben und Ausscheidungen, insbesondere im Auswurf, war bisher erschwert

1. durch das langsame Wachsthum des Tuberkelbacillus in den üblichen, zur Züchtung desselben benutzten Nährböden,

2. durch das Ueberwuchern der mit tuberkelbacillenhaltigem Material inficirten Nährböden und Beeinträchtigung des Wachsthums der Tuberkelbacillen durch schnellwachsende andere Bakterien, und

3. durch die Unsicherheit des Erfolges der Uebertragung tuberkelbacillenhaltigen Materiales auf Thiere.

Es dürfte daher die Fachgenossen die Mittheilung eines Verfahrens interessiren, dem die unvermeidlichen Nachtheile jener Mängel nicht oder in wesentlich geringerem Grade anhaften.

Aussicht auf Erfolg nach dieser Richtung boten in erster Linie Bemühungen, die dahin gingen, einen Nährboden zu finden, auf dem der Tuberkelbacillus besonders gut gedeiht, andere Bakterien aber in ihrem Wachsthum zurückgehalten werden.

Der Erfolg der Verwendung von Nähr-Agar Agar zu bakteriologischen Wasseruntersuchungen, der Nährstoff Heyden[1] an Stelle von Pepton enthält, hat mich veranlasst, das Wachsthum einer grossen Anzahl von Krankheitserregern in Nährböden, denen Nährstoff Heyden zugesetzt war, zu studiren. Hierbei ergab sich, dass namentlich der Tuberkel-

[1] Nährstoff Heyden ist ein aufgeschlossenes, löslich gemachtes Albumin, das in seinen Eigenschaften zwischen coagulirtem Albumin und Somatose steht.



bacillus in bisher nicht gekannter Weise gedieh, so dass dessen charakteristisches Auswachsen bereits nach 1 bis 3 Tage langem Züchten im Brütofen an Klatschpräparaten und bei Benutzung mässig starker Vergrösserungen sicher festzustellen war.

Dies hat weiter dazu geführt, solchen Nährboden zu Züchtungen des Tuberkelbacillus aus tuberkelbacillenhaltigem Sputum zu benutzen.

Das Ergebniss dieser Versuche war sehr befriedigend, denn mit wenigen Ausnahmen wiederholten sich hierbei die nach Uebertragung von Reincultur des Tuberkelbacillus auf den Nährboden beobachteten Vorgänge.

Die Ausnahmen betrafen Sputa, die ausser Tuberkelbacillen schnell wachsende, die Nährbodenoberfläche überziehende und das Wachsthum der Tuberkelbacillen beeinträchtigende Bakterien enthielten. Diese Ausnahmen gaben den Anstoss, zu prüfen, ob sich nicht vor dem Ueberwuchern des Nährbodens durch andere Bakterien das Wachsthum der Tuberkelbacillen erkennen lasse.

Zu dem Zwecke wurden in einer Reihe von Versuchen nach Uebertragung des Sputums auf den Nährboden stündlich Klatschpräparate angefertigt und untersucht. Es ergab sich, dass in der That in solchen Fällen bereits vor dem Ueberwuchern des Nährbodens, nach 5 bis 6 stündigem Aufenthalt der Platten im Brütofen, der Beginn des Wachsthums der Tuberkelbacillen nachgewiesen werden kann. Dasselbe kennzeichnet sich unter anderem dadurch, dass ein Theil der Einzelbacillen der Länge oder Dicke nach verdoppelt erscheint, dass also im Vergleich mit dem ursprünglichen Sputumpräparat eine grössere Zahl von Doppelbacillen und kleinsten Colonieen vorhanden sind, die Präparate in Folge dessen überhaupt bacillen- und colonieenreicher, dagegen ärmer an Einzelbacillen erscheinen, zumal das Wachsthum der im Sputum ursprünglich vorhanden gewesenen Bacillenhaufen und -züge in demselben Sinne wirkt.

Bei der ungleichmässigen Vertheilung der Tuberkelbacillen im Sputum erfordert die Feststellung dieser Thatsache nach so kurzer Zeit allerdings einige Uebung. Unfehlbar aber gelingt dieselbe mit Sputen, die wenig oder keine schnellwachsenden anderen Bakterien enthalten, nach Verlauf eines halben oder ganzen Tages.

Dann findet sich in Klatschpräparaten schon eine derartige Zunahme der Bacillenzüge mit charakteristischer (paralleler) Anordnung der Tuberkelbacillen, dass auch der Ungeübte sich nicht mehr über das stattgehabte Wachsthum im Zweifel befinden kann.

Die Vermehrung der Tuberkelbacillen wurde in keinem der zahlreichen untersuchten Fällen vermisst, in denen sich mikroskopisch Tuberkelbacillen im Sputum auffinden liessen.

Auf Grund dieser Wahrnehmung bezweifle ich, dass es tuberkelbacillenhaltige Sputen mit lauter abgestorbenen Bacillen giebt, neige vielmehr zu der Annahme hin, dass sämmtliche im Sputum enthaltenen Bacillen vermehrungsfähig sind.

Methodik.

Nach meinen Erfahrungen empfehle ich, folgenden Weg einzuschlagen:

In eine Petri'sche Doppelschale von ca. 9.5cm leichtem Durchmesser giebt man 20ccm des Nährbodens. Nach Erstarren desselben kehrt man die Doppelschale um und bewahrt sie dauernd in dieser Stellung. Den zu untersuchenden verdächtigen Auswurf lässt man sich womöglich persönlich unmittelbar vor der Untersuchung vom Kranken in ein steriles Glasgefäss spucken. Die Tageszeit, zu der dies geschieht, ist ziemlich gleichgültig, vorheriges Ausspülen der Mundhöhle unnöthig.

Dem Sputum entnimmt man mittels einer aus starkem Platindraht zweckmässig gebogenen Oese ein etwa linsengrosses Stück eiterigen Schleimes und zieht dasselbe auf der Nährbodenoberfläche nahe dem Glasschalenrande zu einem geschlossenen Kreise aus. Von diesem Streifen aus findet die weitere Vertheilung statt, so dass der Nährboden schliesslich mit 20 bis 30 kleinen, gesondert gelagerten Schleimflöckchen bedeckt ist. Nunmehr gelangt die Doppelschale in den Brütofen.

Um nach Verlauf beliebiger Zeit Klatschpräparate unter Vermeidung des Zutrittes von Luftkeimen zu gewinnen, verfährt man folgendermassen:

Man sterilisirt ein mit der Deckglaszange gefasstes Deckglas, indem man es mehrmals durch die Flamme eines Bunsenbrenners zieht, legt es auf die Oeffnung eines Reagirglases, führt es von unten auf eine Stelle der Nährbodenoberfläche, auf der sich ein Schleimflöckchen befindet, und hebelt es mittels der Platinöse wieder ab. Hierbei bleibt das Schleimflöckchen in der Regel am Deckglas haften. Um das Abfallen des Deckglases vom Nährboden beim Abhebeln zu vermeiden, empfiehlt es sich, die Doppelschale nach dem Rande zu zu neigen, an dem man abhebelt; dann bleibt das Deckglas mit dem entgegengesetzten Rande am Nährboden frei hängen und kann von hier mittels Deckglaszange entfernt werden. Mitunter gelingt es nicht, auf diese Weise dem Nährboden ein Schleimflöckchen zu entnehmen; in solchen Fällen hilft man sich dadurch, dass man das auf dem Nährboden liegende bezw. auf denselben zurückgeklappte Deckglas an der Stelle, wo das Schleimflöckchen liegt, mit einem heissgemachten Glasstabe berührt, so dass der Agar Agar schmilzt, und nun schnell abhebelt.



Wünscht man die Züchtung längere Zeit fortzusetzen, so empfiehlt es sich, um das Eintrocknen des Nährbodens zu verhüten, die Schalenränder mit einem breiten auf die Aussenfläche der Böden beider Schalen übergreifenden Bande von dünnem Gummi (Cofferdam der Zahnärzte) zu umschliessen, und auf diese Weise eine feuchte Kammer herzustellen. Dies kann auch in jedem Falle vom Anfang der Züchtung an geschehen. Da durch den dünnen Gummi hindurch genügender Gasaustausch erfolgt, die Wasserverdunstung aber nahezu aufgehoben ist, lässt sich die Züchtung ungestört wochenlang fortsetzen.

In der feuchten Kammer, die sich auch mitunter von selbst herstellt, wenn die Doppelschalen sehr gut auf einander passen, bildet sich sehr leicht Condenswasser, das klebrigen Nährstoff gelöst enthält.

Um die hiermit verbundenen Unannehmlichkeiten auszuschalten, klemmt man von vornherein zwischen beide Hälften der Doppelschale ein knieförmig gebogenes Stückchen Asbestpappe, so dass der Rand der oberen Schale den Boden der unteren nur an einer Stelle berührt, lässt wohl auch gelegentlich das entstandene Condenswasser bei zeitweiliger Entfernung des Gummiverschlusses im Brütofen abdunsten.

Den Nährboden bereitet man sich aus folgenden Stoffen:

Nährstoff Heyden	5 grm
Kochsalz	5 „
Glycerin	30 „
Agar Agar	10 „
Normallösung von Krystallsoda (28·6 : 100)	5 ccm
Destillirtes Wasser	1000 „ .

Die Herstellung desselben, insbesondere die Lösung des Nährstoffes Heyden, findet sich zwar bereits an anderer Stelle[1] angegeben; sie soll aber der Vollständigkeit halber hier nochmals beschrieben werden:

Man nimmt ein Becherglas, giebt ein wenig Wasser hinein, schüttet den Nährstoff Heyden darauf, schwenkt das Glas, bis der Nährstoff durchaus benetzt ist, und quirlt dann so lange mit einem kleinen Quirl, bis der Nährstoff vollkommen gelöst ist. Hierauf wird die Lösung dem Agar Agar, der zuvor mit den erforderlichen Mengen von Kochsalz, Glycerin und Soda in destillirtem Wasser etwa 2 Stunden lang gekocht wurde, zugefügt, und das Gemisch noch etwa $^1/_4$ Stunde lang unter beständigem Umrühren (zur Vermeidung des Anbrennens und Ueberlaufens) vorsichtig weiter gekocht. Hierauf wird der flüssige Nährboden gleichzeitig in mehreren (5 pro Liter) mit angefeuchteten Faltenfiltern versehenen Glas-

[1] Hesse u. Niedner, Die Methodik der bakteriologischen Wasseruntersuchung. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXIX.

trichtern in einem bedeckten, kochendes Wasser enthaltenden Blechgefäss (Fig. 1)[1] in beständigem Dampfstrom filtrirt. Zwischen Flamme und 1. Trichter befindet sich eine schützende Scheidewand von Asbestpappe. Der beschriebene Apparat gewährt den Vortheil, dass der Nährboden vollständig filtrirt, und dass man sich bis zum Ende der Filtration nicht um ihn zu bekümmern braucht.

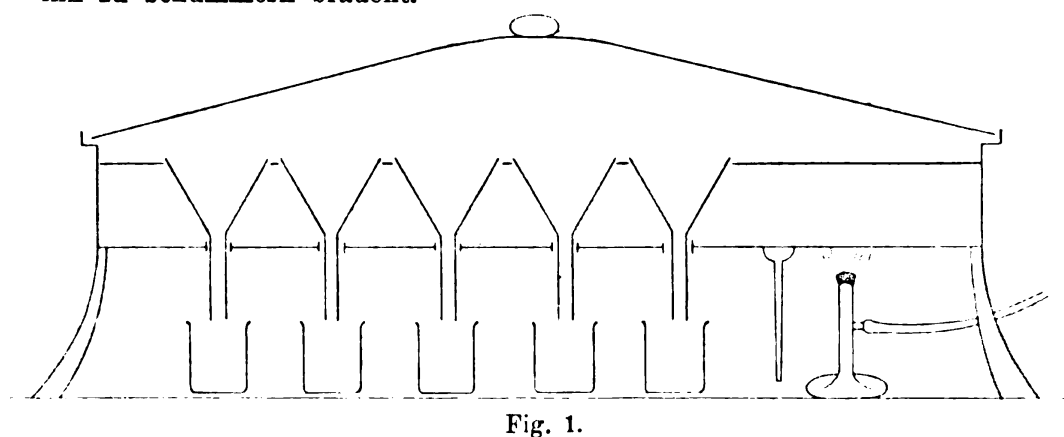


Fig. 1.

Die Verwendung von Fleischbrühe zum Nährboden empfiehlt sich wenigstens für Sputumuntersuchungen nicht, da einmal in Fleischbrühe-Agar Agar die Tuberkelbacillen nicht wesentlich besser wachsen, und das andere Mal viel leichter Ueberwucherungen des Nährbodens mit schnell wachsenden anderen Bakterien eintreten, als in Wasser-Agar Agar. Will man aber Fleischbrühe verwenden, so muss man den Nährboden erst neutralisiren, und dann je einem Liter desselben 5^{ccm} der Normallösung von Krystallsoda zusetzen.

Wenn ich die Hoffnung ausspreche, dass sich mein Verfahren namentlich dem Tuberkelbacillus gegenüber noch nach manchen anderen Richtungen bewähren wird, so hat dasselbe bei der Verwendung zur Züchtung der Tuberkelbacillen aus dem Sputum unter anderem jetzt schon gezeigt, dass

1. jedes tuberkelbacillenhaltige Sputum lebende und vermehrungsfähige Tuberkelbacillen enthält, und

2. in jedem tuberkelbacillenhaltigen Sputum Tuberkelbacillen in verhältnissmässig kurzer Zeit (binnen Stunden) zum nachweisbaren Wachsthum gebracht, angereichert werden können, und

3. mein Vorgehen in vielen Fällen dem Thierversuch überlegen ist, denselben also vielfach zu ersetzen vermag.

[1] Vom Klempnermstr. Heymann in Dresden-A., Lindenaustr. 12, angefertigt.

Zur Phagocytose.

Von

Prof. **Ernst Almquist**
in Stockholm.

(Hierzu Taf. II.)

Von Metschnikoff, seinen Schülern und Nachfolgern ist eine beträchtliche Menge von Einzelbeobachtungen und Thatsachen über die Phagocytose in der Litteratur gesammelt worden und ein jeder Forscher, der auf diesem Gebiet arbeitet, überzeugt sich leicht, wie unerhört rasch und sicher die lebendigen Leukocyten Bakterien in sich aufnehmen. Diese Thatsache ist endgültig festgestellt. Der Streit kann nur gelten, wie diese Thatsache bezüglich der Immunität aufgefasst werden soll.

Hier werden in Kurzem einige Untersuchungen über das bakterienaufnehmende Vermögen der Leukocyten in vitro und unter Verhältnissen, wo man mit aller Wahrscheinlichkeit annehmen muss, dass sie abgestorben sind, vorgeführt. Als Material habe ich hauptsächlich Blut von Schweinen, aber auch von Kanincben gebraucht. Um darin genügend Leukocyten zu haben, habe ich das frische, geschlagene Blut centrifugirt. Nach 5 bis 10 Minuten bildet sich dabei ein klares Serum; die Blutkörperchen sammeln sich am Boden mit den Leukocyten im obersten Lager des Blutkuchens. Dieses Lager wird im klaren Serum aufgeschwemmt. Auf diese Art habe ich immer eine genügende Menge Leukocyten gewonnen, besonders zahlreich waren sie im Schweineblut. Die meisten Leukocyten fand ich jedoch immer mononucleär.

Nachdem ich also ein gutes Material bereitet hatte, setzte ich zu der Aufschwemmung von Blutkörperchen im Serum Bakterien, die auf Agar-Agar cultivirt waren. Die Serummenge betrug etwa 3 ^{ccm}, die Bakterien eine Platinöse.

Zuerst centrifugirte ich das so bereitete Serum recht gründlich. Nach 20 Minuten und 7 bis 8000 Umdrehungen in der Minute fand ich sehr oft die polynucleären Leukocyten voll von Bakterien. Ich minderte dann Zeit und Umdrehungsschnelligkeit und kam doch ziemlich zu demselben Resultat, obgleich ich dabei auch die Proben abkühlte. Dieses geschah dadurch, dass die massive Centrifugenscheibe für beträchtliche Zeit unter der Wasserleitung gehalten wurde. Vor und nach dem Centrifugiren wurde die Temperatur bestimmt. Dieselbe stieg z. B. beim Centrifugiren während 12 Minuten von 9 bis 21° C., während 6 Minuten von 7 bis 17° u. s. w. Nach 15 Minuten langer Umdrehung ohne vorhergehende Abkühlung hatte die Scheibe öfters eine Wärme von 32°. Wie gesagt, zeigten bei Abkühlung, und zwar meistens unter 15° C., die mehrkernigen Leukocyten grosse Fähigkeit, Bakterien in ihr Inneres aufzunehmen. (Vgl. Taf. II.) Schon nach 2 Minuten sah ich recht viel Bakterien im Inneren der Zellen.

Dass die Bakterien wirklich im Protoplasma liegen, geht bei Betrachtung der ungefärbten Leukocyten im hängenden Tropfen unzweideutig hervor. Man sieht bei verschiedener Einstellung des Tubus die Bakterien in allen Theilen des Inneren der Zelle. Diese Beobachtung ist besonders leicht zu machen, wenn Sporen aufgenommen sind. Ihre leicht erkennbare Form sichert vor Irrthum. Die gefärbten Zellen sind auch lehrreich. Man sieht, wie die Mikroorganismen zwischen den Kernen eingedrungen sind und auch die abgelegensten Winkel dort aufsuchen. In die Kerne dringen sie nicht ein, das ist wohl die Ursache, dass die einkernigen Zellen, die von sehr wenig Protoplasma umgeben sind, frei von Mikroorganismen bleiben. Dass die Mikroorganismen wirklich von den polynucleären Zellen gebunden sind, geht auch daraus hervor, dass man nicht selten Gesichtsfelder sieht, wo alle oder fast alle Bakterien zusammen mit den Zellen liegen; ja so kann sich ein ganzes Präparat verhalten.

Ungleichheit unter den Bakterienarten habe ich kaum beobachtet, obgleich ich mehrere verschiedene vorgenommen habe: Pyogenes aureus und albus mit den biologisch abweichenden Arten Pemphigi neonatorum und Impetiginis (Unna), Löffler's Diphtheriestäbchen, Coli commune, Typhusbacillus, Endosporen von Anthrax und Heubacillus, Blutverwesungsstäbchen u. A. Alle fand ich in kurzer Zeit und in beträchtlicher Menge von den Leukocyten aufgenommen.

Im Centrifugiren liegt die Sache nicht. Durch Schütteln eines kleinen Rohres mit der Hand kommt man zu demselben Resultat. Jedoch ist diese Art der Untersuchung insofern unbequemer, als die aufgeschwemmten Leukocyten nicht so leicht zu finden sind wie nach dem Centrifugiren.



Ich pflegte dabei etwas gewaschenen und gesiebten Sand zuzufügen, um das Schütteln zu erleichtern. Jedoch darf man dieses nicht zu energisch ausführen, weil dann die vielkernigen Leukocyten in ganz kurzer Zeit beschädigt werden können. Dieselbe Beschädigung findet man auch nach längerem, z. B. einstündigem Centrifugiren mit vielen Bakterien. Nach Schütteln bei etwa 15° während ein Paar Minuten habe ich mehrmals einen guten positiven Erfolg bekommen. Mit dieser Methode habe ich nur Pyogenes- und Heubakteriensporen behandelt, beide mit positivem Resultat.

Es geht aus meinen Versuchen hervor, dass nicht nur die lebendigen Leukocyten die betreffende Eigenschaft besitzen. Die niedrige Temperatur hindert anzunehmen, dass active Protoplasmabewegungen eine Rolle haben spielen können. Ich fing diese Studien mit einem Blute an, das mehr als 24 Stunden alt und in den Eisschrank gestellt war, und doch bekam ich positives Resultat. Es ist leicht, sich zu überzeugen, dass nach einem Tage und mehr die Zellen noch grosse Fähigkeit besitzen, Bakterien aufzunehmen. Es scheint mir fraglich, ob in dieser Hinsicht ein Unterschied zwischen ganz frischem, nur etwa 1 Stunde altem und 1tägigem, kalt aufbewahrtem Blut zu constatiren ist. Wenn das Blut noch älter wird oder anfängt zu verfaulen, so findet man öfters die mehrkernigen Leukocyten undeutlich färbbar; wahrscheinlich sind dann die Zellen in Auflösung begriffen. Es scheint mir, als wären die mononucleären Zellen gegen Verwesung mehr widerstandsfähig. So lange in den polynucleären Zellen die Kerne noch gut färbbar waren, habe ich das Phänomen constatiren können; bei 2 Tage altem Blut gelang dieses ohne grosse Schwierigkeit. Wenn ich zum Blut etwas Chloroform vorsichtig hinzufügte, konnte ich nach ein Paar Tagen das Phänomen gleichfalls beobachten.

Einen Versuch habe ich mit Zellaufschwemmungen von einigen Organen eines eben getödteten Kaninchens gemacht, und zwar von Leber. Milz und Mesenterialdrüsen. Die Zellen dieser Organe wurden im centrifugirten, klaren Blutserum desselben Thieres aufgeschwemmt. Die Zellen der Mesenterialdrüsen nahmen zahlreiche Bakterien, Pyogenes und auch Sporen von Heustäbchen in ihr Protoplasma auf. In Zellen von Milz und Leber fand ich bei einem Versuche nichts Derartiges.

Weiter habe ich Urin von einer Person untersucht, die an den Nieren leidet, sonst aber gesund ist. Im Urin findet man äusserst zahlreich sowohl Leukocyten wie ein Bakterienstäbchen vor, das wahrscheinlich zu Aërogenes gehört. Im frischen Urin habe ich nur sehr wenige Leukocyten finden können, die sicher Stäbchen im Inneren beherbergten. Bei Färbung mit Löffler's Methylenblau zeigten sich die Kerne der frischen Zellen diffus und also schon verändert. Nach gründlichem Centrifugiren des



frischen Urins fand ich das Verhältniss kaum geändert; die Leukocyten nahmen keine Bakterien auf.

Obgleich es nicht direct zur Frage gehört, will ich hier eine kleine Beobachtung vorführen, die ein gewisses Interesse zu haben scheint. Die ganz glatten Conidien von Penicillium glaucum besitzen die Fähigkeit, gewisse Bakterien an ihrer Oberfläche festzuhalten. Ich fand die Thatsache, da ich diese Conidien zusammen mit einer prodigiosusähnlichen Bakterienart aufschwemmte. Nach etwas Schütteln zeigte sich im Mikroskope fast jede Conidie von Stäbchen umgeben. Wurde die Aufschwemmung durch Papier filtrirt, so blieben die meisten Stäbchen mit den Conidien auf dem Filter und die Flüssigkeit ging ziemlich klar durch. Dieselben Stäbchen produciren rothe Farbenkörner. Kurze Zeit nach Aufschwemmung der Conidien und Bakterien sieht man das Innere der sonst sichtbar unveränderten Conidien roth gefärbt. Keimlinge und Mycelfäden können hochroth werden, als wären sie gründlich mit einer rothen Anilinfarbe behandelt worden. Die Beobachtung zeigt, dass auch Mikroorganismen die Fähigkeit besitzen können, Bakterien um sich zu sammeln und ganz oder theilweise in sich aufzunehmen.

Aus vorliegender Erfahrung geht hervor, dass die abgestorbenen wie die lebendigen polynucleären Leukocyten grosse Fähigkeit besitzen, Bakterien in ihr Protoplasma aufzunehmen. Es erinnert das Phänomen an die Attraction zwischen Gold und Quecksilber oder noch mehr an die Fähigkeit des Schwammes, beim Eintauchen in eine Flüssigkeit diese aufzusaugen. Das Protoplasma der Leukocyten nimmt gleich begehrlich in sich Bakterien auf, da solche an ihre Oberfläche kommen. Es muss angenommen werden, dass bei Berührung diese Körper die grösste Attraction auf einander ausüben. In meinen Versuchen war Zinnober viel schwerer in's Innere der betreffenden Zellen hinein zu bekommen.



Erklärung der Abbildungen.

(Taf. II.)

Alle Bilder sind mit Seibert's Apochromat $^1/_{12}$ und Oc. 4 gezeichnet worden. Die gefärbten sind mit Löffler's Methylenblau während $^1/_4$ bis $^1/_2$ Minute behandelt, die ungefärbten sind im hängenden Tropfen abgezeichnet. Alle in der Umgebung der gezeichneten Leukocyten sichtbaren Mikroorganismen sind in den Bildern wiedergegeben. Die Präparate sind gleich nach dem Centrifugiren fertig gemacht.

Fig. 1. Schweineblut und Pyogenes aureus von einer Agarcultur während 20 Minuten bei 7 bis 8000 Umdrehungen in der Minute centrifugirt. In einem mehrkernigen Blutkörperchen zahlreiche gefärbte und einige grösser aussehende ungefärbte Kokken, in der Umgebung nur ein Paar Kokken sichtbar. An der Oberfläche der einkernigen Leukocyten einige Körner, die möglicher Weise auch Pyogeneskokken ausmachen.

Fig. 2. Schweineblut und Pyogenes von Agar-Agar, 12 Minuten centrifugirt; 6000 Umdrehungen. Während des Centrifugirens stieg die Temperatur von 9 bis 21° C. Ein Leukocyt propfenvoll mit Kokken. Ausserhalb derselben einige wenige Kokken; ein Haufen scheint an einen mononucleären Leukocyten angeklebt zu sein. Oben drei rothe Blutkörperchen.

Fig. 3. Schweineblut und Pyogenes von Agar-Agar, 6 Minuten centrifugirt, höchstens 5000 Umdrehungen in einer Minute. Die Temperatur des Blutes stieg von 8 bis 17° während des Drehens. Zwei Leukocyten enthalten eine Masse Kokken, die dritte kleine, einkernige Zelle keine. Zwischen den Leukocyten einige Haufen von Kokken, von denen einige wenige ungefärbt geblieben sind. Auch in den Leukocyten können dergleichen ungefärbte Kokken gesehen werden.

Fig. 4. Schweineblut und Pyogenes von Agar-Agar, 8 Minuten bei 10 bis 20° und höchstens 7000 Umdrehungen centrifugirt. Ein grosser und ein kleiner Leukocyt, der erstgenannte im Protoplasma zwischen den Kernen ziemlich voll von Kokken.

Fig. 5. Endosporen einer Heubakterie mit Schweineblut 8 Minuten bei 10 bis 20° und höchstens 7000 Umdrehungen centrifugirt. Drei grössere Leukocyten und



zwei kleinere. Im Gesichtsfeld einige frei liegende Sporen, mehrere im Protoplasma der Leukocyten.

Fig. 6. Schweineblut und Heubakteriensporen 2 bis 3 Minuten bei etwa 15° und mit höchstens 3200 Umdrehungen centrifugirt. Man sieht die Sporen im Protoplasma zwischen den Kernen der Leukocyten.

Fig. 7. Kaninchenblut und Heubakteriensporen 10 Minuten bei 10 bis 15° centrifugirt. Von den drei Leukocyten zeigt sich der einkernige frei von Sporen, der eine mehrkernige weist einige auf, der dritte ist pfropfenvoll.

[Aus dem k. k. Institut für die Herstellung von Diphtherieheilserum, Vorstand: Prof. Paltauf, und dem chemischen Laboratorium der k. k. Krankenanstalt Rudolfstiftung, Vorstand: Dr. E. Freund.]

Ueber die qualitativen und quantitativen Verhältnisse der Eiweisskörper im Diphtherieheilserum.

Von

Dr. med. und phil. **W. Seng.**

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Frage, ob Differenzen und eventuell welche im Mengenverhältnisse und in der Natur der Eiweisskörper des Blutserums von diphtherie-immunisirten Pferden gegenüber normalen Pferden bestehen.

Gerade mit den Eiweisskörpern musste sich eine Arbeit über die Chemie der Diphtherieantitoxine beschäftigen, nachdem alle in der Litteratur hierauf bezüglichen Angaben darauf hinweisen, dass die Diphtherieantitoxine mit gewissen Eiweisskörpern innig verbunden sind, vielleicht selbst Modificationen von solchen darstellen.

Ganz abgesehen von ihrem physiologischen Verhalten, der hohen Empfindlichkeit gegen die atmosphärischen Einflüsse, gegen Licht, gegen Wärme, — längere Einwirkung einer Temperatur von 60° hebt die Antitoxinwirkung auf, woraus viele Autoren eine Fermentnatur des Antitoxins erschliessen wollten —, weisen auch die vorliegenden Anfänge chemischer Untersuchungen auf die Eiweissnaturen der Antitoxine hin.

So fand Tizzoni,[1] dass die ganzen Tetanusantitoxine an den durch Magnesiasulfat bei 30° ausgesalzenen Eiweisskörpern, also an den Globulinen hänge, während das Filtrat frei von Antitoxinen war.

---

[1] Virchow, *Festschrift.* Bd. III. S. 48.



Brieger und Boer[1] gelangten nach sehr zahlreichen Versuchen mit den verschiedenen Neutral- und Metallsalzen der schweren Metalle zu folgendem Concentrationsverfahren der Diphtherieantitoxine: [2]

Mit dem fünffachen Volumen Wasser verdünntes Diphtherie- oder Tetanusheilserum wird mit dem Doppelten des ursprünglichen Volumens einer 1 procent. Zinksulfat- oder Zinkchloridlösung gefällt, der Antitoxin-Zinkniederschlag mit wenig Wasser gewaschen, in schwach alkalischem Wasser (1:400 normalem Alkali) gelöst, und aus der Lösung das Zink durch Einleiten von Kohlensäure gefällt.

Wurde früher mit Zinksulfat gefällt, so enthält jetzt der Niederschlag die Antitoxine, bei der Verwendung von Zinkchlorid gehen dieselben in's Filtrat. Der Antheil, welcher die Antitoxine einschliesst, wird im Exsiccator getrocknet, um das Zinkalbuminat unlöslich zu machen, während die löslich bleibenden Zinkantitoxine wieder in schwachem Alkali gelöst und die Reste von Zink neuerdings mit Kohlensäure ausgefällt werden.

So erhielten Brieger und Boer aus 10 ccm Heilserum einen Niederschlag von 0·1 grm, welcher die ganzen Antitoxine, daneben Eiweiss, Zucker und Zink enthielt.

Jedenfalls sind die Fällungsverhältnisse bei dieser Methode, deren physiologisch-chemische Grundlage eigentlich unbekannt ist, in ausserordentlich empfindlicher Weise, wie ja auch die beiden Autoren andeuten, von dem grösseren oder geringeren Säure-, bezw. Alkaligehalt der verwendeten Lösungen, sowie von deren Concentration abhängig.

Versuche, welche im hiesigen Laboratorium von den Herren DDr. Ender und Bondy ausgeführt wurden, ergaben ausser den angedeuteten Schwierigkeiten eine neue: Nur mit kleinen Serummengen waren gute Antitoxinausbeuten zu erzielen, die Verarbeitung grösserer Quantitäten war mit solchen Verlusten verknüpft, dass das Verfahren als unökonomisch aufgegeben wurde.

So wurde wieder der von Tizzoni angegebene, in seinen chemischen Grundlagen genau bekannte Weg betreten; hatten seine Versuche für das Tetanusserum bewiesen, dass die Globuline die Träger der Heilwirkung seien, so ergaben die Versuche von DDr. Ender und Sternberg, dass ein Gleiches für die Diphtherieantitoxine gelte, sei es, dass die Globuline durch Uebersättigen des Serums mit Magnesiasulfat bei 30°, sei es durch das gleiche Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung gefällt worden waren.

Die naheliegende Vermuthung, dass es gerade die Niederschlagsbildung

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXI. S. 259.

[2] Die weiteren auf diesen Gegenstand bezüglichen Arbeiten hatten keine wesentliche bessere Reinigung der Antitoxine gebracht und werden am Schlusse der Arbeit näher gewürdigt. (S. 531.)



sei, welche die Antitoxine mitrisse, als ein physikalischer, kein chemischer Vorgang, erwies sich als nicht stichhaltig.

Schon Brieger's Bemerkung, dass die Antitoxine bei Zinkchloridfällung in das Filtrat von der Kohlensäurefällung gehen, während sie bei der Sulfatfällung beim Niederschlage verbleiben, bewies, dass die chemische Natur des entstandenen Niederschlages oder des Fällungsmittels darüber entscheide, ob das Antitoxin mit ausfällt, dasselbe aber keineswegs von jeder Art von Niederschlag mitgerissen werde.

Eine weitere gewichtige Stütze dieser Ansicht brachten die Versuche von Dr. Sternberg.

Es war unbequem, mit so eiweissreichen Antitoxinlösungen, wie sie das native Diphtherieserum darstellt, zu arbeiten; nun zeigte sich im Laufe vieler Versuche im hiesigen Laboratorium, Eiweiss auf anderem als dem Brieger'schem Wege von den Antitoxinen zu entfernen, dass durch Zusatz von $^1/_3$ Volumen einer 5 procent. (Concentration) Lösung von Kalialaun zum Serum ein grosser Theil der Eiweisskörper als äusserst voluminöser Niederschlag gefällt wird, die Antitoxine aber in Lösung bleiben.

Das Löslichbleiben der Antitoxine trotz der in ihrer Lösung entstehenden massigen Niederschläge spricht gegen die Fermentnatur dieser Körper.

Die weitere Untersuchung des dialysirten Filtrates ergab, dass alles Albumin aus der Lösung ausgefällt war, die gesammten, in der Lösung noch vorhandenen Eiweisskörper Globuline waren; sowohl die Methode von Hammarsten — Magnesiasulfatsättigung —, als die Methode von Pohl — halbe Sättigung mit Ammonsulfat — ergaben dieses Resultat.

Ich weise auf diese Albuminfällung, welche aus Versuchen des Hrn. Institutsvorstandes Dr. E. Freund hervorgegangen ist, deshalb besonders hin, weil wir im Kalialaun das erste Mal einem Reagens begegnen, welches gestattet, Albumin aus alkalischer Lösung — dem Blutserum mit seiner natürlichen Alkalescenz — zu fällen, während Globulin gelöst bleibt; bei allen früher verwendeten Methoden wurden hingegen die Globuline zuerst gefällt.

In der weiteren Verfolgung und Wiederholung der Versuche von Dr. Sternberg habe ich die mannigfachsten Veränderungen der Mengenverhältnisse des Kalialauns zum Serum, so besonders — um die lästige Vergrösserung des Flüssigkeitsvolumens zu vermeiden — die Verwendung des Salzes in Substanz versucht, bin aber schliesslich wieder zu dem ursprünglichen Verhältnisse: $^1/_3$ Volumen einer 5 procent. Lösung, zurückgekehrt, nachdem sich bei diesem Mengen- und Concentrationsverhältnisse das Optimum an Antitoxinausbeute ergab.

Auch den Modus der Filtration vom Aluminium-Albuminniederschlage habe ich auf die verschiedenste Weise zu ändern versucht: Coliren



durch Tücher, Absaugen an der Pumpe, Centrifugiren (bis 3000 Umdrehungen pro Minute, Radius 40 ^{cm}), kehrte aber schliesslich wieder zur Filtration durch Faltenfilter, welche vorher mit Wasser angefeuchtet werden, zurück.

Bei Versuchen, ob der Niederschlag besser mit einer Kalialaunlösung von entsprechender Concentration oder mit Wasser ausgewaschen werden soll, entschied ich mich für das letztere, weil sich ein Theil des Niederschlages in Kalialaunlösung wieder auflöst.

Der Weg der Antitoxinconcentrirung durch die combinirte Fällung mit Kalialaun und Ammonsulfat ist von Dr. Freund und Dr. Sternberg[1] in einer eigenen Mittheilung genau beschrieben worden.

Ob nun die Albumine vorher durch Kalialaun entfernt waren, oder ob natives Heilserum verwendet wurde, ob die Globuline durch Magnesiasulfat, oder durch Ammonsulfat gefällt worden waren, stets blieb nach diesen Versuchen die Gesammtheit der Antitoxine bei den Globulinen.

Um den Antitoxinwerth derselben festzustellen, war es zunächst nöthig, die Salze zu entfernen, da dieselben einerseits heftige Blutgifte für unsere Versuche sind —, ein Grund, der bei der minimalen Menge der zur Prüfung verwendeten Lösung allerdings weniger schwer in's Gewicht fällt, als der zweite —, andererseits ein längeres Verweilen der Antitoxine in so concentrirter Salzlösung, wie Brieger in der oben citirten Abhandlung erwähnt, die Antitoxine zerstört.

Diese Entsalzung geschah durch Dialyse. War von vornherein zu erwarten, dass durch eine Dialyse, welche bis zum Verschwinden der Reactionen auf Chlor, Ammon, Schwefelsäure fortgesetzt wurde, in dem salzfreien Lösungsmittel alle Globuline ausfallen würden, so zeigte sich nun, dass nur ein sehr kleiner Theil, 1:23 bis 1:11 aller Globuline sich unlöslich abschied, die Hauptmenge der Globuline und mit ihnen die ganzen Antitoxine in Lösung blieben.

Der Begriff „lösliches Globulin" scheint eine contradictio in adjecto zu enthalten, nachdem seit Th. Weil, Hammarsten und Hoppe-Seyler das Globulin als ein in salzfreiem Wasser unlöslicher Eiweisskörper galt; ja die erste seiner Darstellungsmethoden bestand eben in der Verdünnung des Serums mit Wasser, also in der Verringerung der Concentration an Salzen.

Eine wesentliche Aenderung dieser Anschauungen bewirkten die im hiesigen Laboratorium ausgeführten Untersuchungen des cand. med. Marcus,[2] auf die ich mithin verweisen muss.

---

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXI. S. 429.

[2] Erscheinen demnächst in *Zeitschrift für phys. Chemie.* 1899. Bd. XXVII.

Nur um eventuelle Nachprüfungen zu erleichtern, muss ich nochmals betonen, dass die Dialyse so lange fortgesetzt werden muss, bis die Lösung vollkommen frei von den Salzen des Blutserums, also besonders den Chloriden, sowie von dem Fällungsmittel — Magnesia oder Ammon — und Schwefelsäure ist, und sich in diesem Falle bei Verdünnung mit destillirtem Wasser nicht trübt.

Die nach der Vorfällung mit Kalialaun durch Ammonsulfat aus gesalzenen Globuline erwiesen sich allerdings selbst nach Monate langer Dialyse im Gegensatz zu den durch blosse Ammonsulfatfällung gewonnenen Globulinen stärker aschenhaltig (s. Analyse am Schlusse der Arbeit), doch liess sich in der Lösung keine freie Schwefelsäure, wohl aber in der Asche Spuren von Aluminium nachweisen.

War es also durch die bislang ausgeführten Versuche bewiesen, dass die Antitoxine an den „löslichen Globulinen“ haften, so war der weitere Weg meiner Arbeit vorgezeichnet.

Zunächst schien es auffallend, dass die Menge der durch Dialyse ausfallenden unlöslichen Globuline überhaupt geringer, als bei normalem Pferdeserum schien, ferner, dass diese Menge in demselben Maasse abzunehmen schien, als die Immunisirung des betreffenden Thieres fortschritt.

Es lag die Vermuthung nahe, dass eine Verschiebung des unlöslichen Globulins zu Gunsten des löslichen, vielleicht reactionsfähigeren, Hand in Hand mit der Immunisirung gehe.

Die Frage: Ist die absolute oder relative Menge des unlöslichen Globulins ein Werthmesser für die noch zu erreichende, die des löslichen Globulins für die schon erreichte Höhe der Immunisirung? versuchte ich durch folgende Serumeiweissanalysen zu entscheiden:

Serumanalysen des Diphtherieserums von Pferden verschiedenen Immunisirungsalters und verschiedenen Immunisirungswerthes.

Bevor ich die erhobenen Zahlen anführe, bin ich durch die von Autor zu Autor so wechselnde Bestimmungsmethodik genöthigt, die von mir verwendeten Methoden der Trennung und Mengenbestimmung der einzelnen Eiweisskörper mitzutheilen.

Die Gesammteiweissmenge wurde durch die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl bestimmt; obgleich ich mir des theoretischen Fehlers, den Stickstoff von Harnstoff, Harnsäure, Ammonsalzen u. s. w. auf Eiweiss bezogen zu haben, wohl bewusst war, konnte ich mich doch wegen der Gefahr von Verlusten und der viel grösseren Umständlichkeit nicht entschliessen, das Serum vor der Stickstoffbestimmung von diesen stickstoffhaltigen Substanzen durch Dialyse zu befreien.

Auch viele Parallelversuche haben mich nicht ermuntert, die Coagulation und directe Wägung dem von mir verwendeten Verfahren vorzuziehen.[1]

Aus dem durch vier Parallelbestimmungen erhobenen Mittelwerthe wurde die Eiwessmenge genau nach dem von Hammarsten für die einzelnen Eiweisskörper des Pferdeserums ermittelten Gehalt an Stickstoff berechnet.

Als Grundlage für das Verhältniss von Albumin zu Globulin wurde ebenfalls der von Hammarsten für das Pferdeserum angegebene Werth benutzt.[2]

Der Ansatz lautet, wenn n die Zahl der Cubikcentimeter $^1/_4$ normal Lauge bedeutet, welche dem in 5 Cubikcentimetern enthaltenen Eiweiss äquivalent sind:

$\frac{n \cdot 100}{5}$ = Zahl der 100^{ccm} äquiv., 5^{ccm} $^1/_4$ normal Lauge,

$\frac{n \cdot 100}{5} \cdot \frac{14}{1000 \cdot 4}$ = Gewicht des entsprechenden Stickstoffes,

$\frac{n \cdot 100}{5} \cdot \frac{14}{1000 \cdot 4} \cdot \frac{100}{p}$, wenn p der Procentgehalt des betreffenden Eiweisskörpers ist. Daher

A. Für Globulin:

$$n \cdot \frac{100}{5} \cdot \frac{14}{1000 \cdot 4} \cdot \frac{100}{15 \cdot 85} = \frac{n \cdot 7}{15 \cdot 85}.$$

B. Für Albumin: $\frac{n \cdot 7}{16 \cdot 04}$.

C. Für Gesammteiweiss, wenn $\frac{\text{Albumin}}{\text{Globulin}} = \frac{1}{1 \cdot 691}$:

$$\frac{n \cdot 7}{15 \cdot 96}.$$

Factoren und deren Logarithmen.

Für 5 ccm			Für 100 ccm		
	Fact.	Log.		Fact.	Log.
A	0·4416	0·645 03 − 1	A	0·022 08	0·344 00
B	0·4364	0·639 88 − 1	B	0·021 82	0·338 85
C	0·4386	0·642 07 − 1	C	0·021 93	0·341 04

[1] Zu demselben Schlusse gelangte auch v. Szontagh in seiner inzwischen erschienenen Arbeit. *Deutsche med. Wochenschrift.* Bd. XXIV. Nr. 27.

[2] Hierzu bemerke ich, dass in Folge eines uncorrigirten Druckfehlers in Hammarsten's *Lehrbuch der phys. Chemie.* III. Aufl. S. 110 der reciproke Werth dieses Verhältnisses nämlich $\frac{\text{Globulin}}{\text{Albumin}}$ anstatt richtig: $\frac{\text{Albumin}}{\text{Globulin}}$ gesetzt erscheint. (In die soeben erschienene 4. Aufl. ist die betreffende Tabelle nicht mehr aufgenommen.)



Die Trennung der unlöslichen Globuline von den übrigen Eiweisskörpern wurde durch Dialyse gegen fliessendes Wasser bewirkt.[1]

Dieselbe beanspruchte durchschnittlich 10 bis 14 Tage, nach welcher Zeit durch weitere Dialyse kein unlösliches Globulin zu erhalten war.

Der Niederschlag wurde decantirt und am Filter so lange mit gewöhnlichem Wasser gewaschen, bis Eiweiss im Waschwasser auch in Spuren nicht mehr nachweisbar war; dann wurde derselbe, in verdünnter Natriumcarbonatlösung gelöst, der Stickstoffbestimmung unterzogen.

Die Trennung der Albumine von den Globulinen geschah durch Fällung des auf das doppelte mit Wasser verdünnten Serums mit dem der Gesammtmenge gleichen Volumen einer concentrirten neutralen Lösung von schwefelsaurem Ammon, Nachwaschen mit halbgesättigter Ammonsulfatlösung, bis die Waschflüssigkeit eiweissfrei war.

Der ausgewaschene Globulinniederschlag wurde durch wenig Wasser am Filter gelöst.

Die getrennten Albumin- und Globulinlösungen werden unter Zusatz eines Tropfens $^1/_4$ normal Essigsäure coagulirt, und nach dem Kochen genau neutralisirt; das Coagulat, welches sich bei genau neutraler Reaction beinahe augenblicklich klar absetzt, wird mit kochendem Wasser so lange gewaschen, bis das Waschwasser weder Schwefelsäure, noch Ammon — mit Nessler's Reagens geprüft — enthält, ein Vorgang, der in einem Tage kaum zu beenden ist.

Der Fehler endlich, welcher durch die Annahme des oben angeführten von Hammarsten festgestellten Verhältnisses von Albumin zu Globulin, im Gegensatz zu der jedesmal nothwendigen Neuberechnung dieses Verhältnisses entsteht, beträgt Tausendstel-Procente, liegt also weit unter den nothwendigen Fehlergrenzen unserer Methoden.

Die Sera, welche mir zur Verfügung standen, stammten aus dem staatlichen Institut für Herstellung von Diphtherieserum; ihre Menge schwankte zwischen 250 und 300 ^{ccm}.

Sie tragen die Namensbezeichnung der Thiere und ihren Immunisirungswerth nach Ehrlich.

Das Serum „Zoroaster II" ist demselben Thiere, wie „Zoroaster I", aber zu späterer Zeit zwecks Controle der erstgewonnenen Zahlen entnommen; an diesem, sowie an dem Serum „Zerline" wurde nur das Verhältniss von Gesammteiweiss und unlöslichem Globulin festgestellt.

Tabelle I enthält die Mittelzahlen aus je 4 bezw. 2 Parallelbestimmungen und zwar die Menge der zur Neutralisirung des gebildeten Ammons nöthigen Cubikcentimeter $^1/_4$ normal Salzsäure.

[1] Selbstverständlich waren die hierzu verwendeten Dialysirschläuche vor- und nachher auf ihre Dichte sorgfältig geprüft worden.



Tabelle I.

Cubikcentimeter 1/4 norm. Säure auf je 4, bezw. je 2 Parallelbestimmungen.

	Egon 100	Zoro I 130	Zoro II 130	Ritus 180	Zerline 250	
Gesammteiweiss in 5 ccm	19·25	16·15	17·38	17·6	21·58	Mittel aus je 4 Bestimm.
Alle Globuline in 10 ccm	21·8	15·33	—	17·9	—	
Albumin in 10 ccm	15·0	14·8	—	15·1	—	
Unlösliches Globulin in 50 ccm	7·2	3·85	4·73	7·65	13·05	Mittel aus je 2 Bestimm.

Tabelle II.

Berechnet auf 100 ccm Serum.

	Egon	Zoro I	Zoro II	Ritus	Zerline
Gesammteiweiss	385	322	347·6	352	431·6
Alle Globuline	218	153	—	179	—
Albumin	150	148	—	151	—
Unlösliches Globulin	14·4	7·7	9·46	15·3	26·1
Lösliches Globulin	203·6	145·3	—	163·7	—

Tabelle III.

Gramme Eiweiss in 100 ccm Serum = Concentration.

	Egon	Zoro I	Zoro II	Ritus	Zerline	Hammarsten
Gesammteiweiss	8·44	7·06	7·62	7·72	9·47	7·26
Alle Globuline	4·81	3·38	—	3·95	—	4·57
Albumin	3·27	3·23	—	3·39	—	2·69
Unlösliches Globulin	0·32	0·17	0·21	0·34	0·58	—
Lösliches Globulin	4·49	3·21	—	3·61	—	—

Tabelle IV.

Procente vom Gesammteiweiss.

	Egon	Zoro I	Zoro II	Ritus	Zerline	Hammarsten
Alle Globuline	56·62	47·52	—	50·85	—	62·95
Albumin	38·96	45·96	—	42·90	—	37·05
Unlösliches Globulin	3·74	2·39	2·72	4·35	6·04	—
Lösliches Globulin	52·88	45·13	—	46·50	—	—



Weder aus den absoluten Mengen der einzelnen Eiweisskörper, noch aus den relativen liessen sich also Schlüsse ziehen; die Zahlen schwanken in der einen und der andern Richtung; auffallend war nur, dass die absoluten Albuminmengen der verschiedenen Sera unter einander gleich waren; wenn also diese mühevollen Untersuchungen nur negative Resultate zu Tage gefördert haben, so glaube ich, dass der einzige Weg, auf dem sich eine stricte Beantwortung der oben gestellten Fragen finden lässt, darin zu suchen wäre, dass man das Serum eines und desselben Thieres vor, während und nach der Immunisirung auf seine Eiweissverhältnisse untersucht.

Weiterhin schienen Differenzen sowohl im Antitoxingehalt als auch in der Menge von unlöslichem Globulin zu bestehen, je nachdem das Serum durch Spontangewinnung des Aderlassblutes, oder durch Schütteln desselben mit Bleischroten defibrinirt worden war.

Im ersteren Falle resultirt ein mehr gelbes Serum, im zweiten ein mehr röthliches, wohl deshalb, weil dann aus den zertrümmerten Blutkörperchen mehr Hämoglobin vom Serum ausgelaugt wird. Diese Farbendifferenz war im Albumin-Ammonsulfatfiltrate stets deutlicher ausgesprochen, als im nativen Serum.

Tabelle V.

Cubikcentimeter $^1/_4$ norm. Säure, Mittel aus je 4, bezw. je 2 Parallelbestimmungen.

	Rothes	Gelbes	
Gesammteiweiss in 5 ccm . . .	18·6	18·5	Mittel aus je 4 Bestimm.
Alle Globuline in 10 ccm . . .	21·35	22·0	
Albumin in 10 ccm	13·9	15·2	
Unlösliches Globulin in 50 ccm .	4·50	7·05	Mittel aus je 2 Bestimm.

Tabelle VI.

Berechnet auf 100 ccm Serum.

	Rothes	Gelbes
Gesammteiweiss	372	370
Alle Globuline	213·5	220
Albumin	139	152
Unlösliches Globulin	9·0	15·2
Lösliches Globulin	204·5	204·8



Tabelle VII.

Gramme Eiweiss auf 100 ccm Serum = Concentration.

	Rothes	Gelbes
Gesammteiweiss	8·16	8·11
Alle Globuline	4·71	4·86
Albumin	3·03	3·32
Unlösliches Globulin	0·20	0·31
Lösliches Globulin	4·51	4·55

Tabelle VIII.

Procente vom Gesammteiweiss.

	Rothes	Gelbes
Alle Globuline	57·39	59·46
Albumin	37·37	41·08
Unlösliches Globulin	2·42	3·82
Lösliches Globulin	54·97	55·64

Zwischen rothem und gelbem Serum bestanden grössere Unterschiede nur im Gehalt an unlöslichem Globulin, indem das rothe bloss $^2/_3$ von der Menge desselben gegenüber dem gelben enthielt.

Es lag nun die Vermuthung nahe, dass es sich bei dem unlöslichen Globulin nicht um das echte Paraglobulin des Blutserums, sondern um einen jenem sehr nahe stehenden Eiweisskörper, um das Fibrinogen oder um eine Verbindung von Fibrinogen mit Globulin handeln könne, dessen Abscheidung trotz der Gerinnung beim ruhigen Stehenlassen weniger vollständig war, als beim Schütteln mit Bleischroten und den dadurch bedingten günstigeren mechanischen und chemischen Verhältnissen.

Da zur Entscheidung dieser Frage die Coagulationspunkte, weil zu nahe aneinander liegend, nicht zu brauchen waren, versuchte ich die Löslichkeit und die Fällungsgrenzen des unlöslichen Globulins festzustellen.

Dasselbe löst sich sehr leicht in verdünnter (0·1 procent.) Kochsalzlösung und diese Lösung zeigt gegenüber Ammon- und Magnesiasulfat die typischen Fällungsgrenzen des Globulins.

Ein anderer Versuch, das unlösliche Globulin durch salzfrei dialysirtes Albumin sowohl mit wie ohne Anwesenheit von löslichem Globulin



in Lösung zu bringen, misslang; somit sind es wirklich die Salze des Blutserums, nicht die übrigen Eiweisskörper, welche im nativen Serum das „unlösliche Globulin" in Lösung halten.

Da also die gegenseitigen und die absoluten Mengenverhältnisse der Serumeiweisskörper nicht genügend constant, noch weniger aber genügend gross sich erwiesen, um aus ihnen Rückschlüsse auf die Antitoxinbildung ziehen zu können, wendete sich die Arbeit einem anderen Ziele zu.

Nachdem das lösliche Globulin des Heilserums sich von dem löslichen Globulin normalen Serums in seiner physiologischen Wirksamkeit — der Neutralisirung der Diphtherietoxine — unterscheidet, die Grösse dieses Unterschiedes quantitativ mit einer an die mathematische grenzenden Genauigkeit im Thierexperimente sich feststellen lässt: lassen sich zwischen den beiden löslichen Globulinen auch physikalische und chemische Unterschiede auffinden, von denen aus wir Rückschlüsse auf die Natur der Antitoxinkörper und auf den Grund ihrer Wirksamkeit ziehen können?

Zum Vergleiche der gewöhnlich geübten Eiweissreactionen standen mir zwei Lösungen der beiden löslichen Globuline zur Verfügung, deren Eiweissgehalt durch zwei übereinstimmende Stickstoffanalysen ermittelt und durch entsprechende Verdünnung auf gleiche Concentration gebracht wurde.

A. Lösung normalen löslichen Globulins:

5 ccm entsprachen 2·30 ccm $^1/_4$ norm. Säure,
100 ccm „ 46·0 ccm $^1/_4$ „ „

B. Lösung von löslichem Globulin aus Diphtherieheilserum:

5 ccm entsprachen 38·475 ccm $^1/_4$ norm. Säure.

Daher $$38{\cdot}5 : 46 = 5 : x$$
$$x = 5{\cdot}97.$$

Es wurden 5·97 ccm Globulinlösung B auf 100 ccm verdünnt; somit enthielten beide Lösungen gleich viel, nämlich 1·02 Procent Globulin. Keine Unterschiede fanden sich bei der Xantoproteïnsäure-, Biuret-, Millou'schen-, Adamkiewiz'- und Molisch-Reaction, ferner bei dem Verhalten gegenüber Salzsäure, Salpetersäure, Chlorzink, Bleiessig, Quecksilberchlorid, Silbernitrat.

Bezüglich der Molisch-Reaction will ich darauf hinweisen, dass ein Gehalt von 0·02 bis 0·04 Procent Formaldehyd, wie es zur Conservirung von Eiweisslösungen sehr häufig verwendet wird, den positiven Ausfall der Probe aufhebt, während dieselbe von Phenol oder Chloroform nicht beeinflusst wird. Auch gegenüber den beiden für unsere Zwecke wichtigsten Neutralsalzen: Magnesiasulfat, Ammonsulfat verhalten sich beide löslichen Globuline völlig gleich; gleiches Volumen gesättigtes Ammonsulfatlösung

fällt sie vollständig aus. Bei einem Ueberschuss an festem Magnesiasulfat beginnt die Fällung erst über 10° und wird bei 30° vollständig.

Kochsalz im Ueberschuss bewirkt erst bei längerem Stehen eine Trübung, Chlorammon verändert die Lösung nicht, essigsaures Kalium und Natrium fällen in gleicher Weise die Lösungen.

Auch in diesen qualitativen Proben ergab sich mithin kein Unterschied.

Elementaranalyse.

Zum Vergleiche mit der quantitativen Zusammensetzung des normalen Globulins, wie sie von Hammarsten, Hoppe-Seyler und für das lösliche Globulin normalen Serums in neuester Zeit von Markus festgestellt wurde, unterzog ich das lösliche Globulin des Heilserums der Elementaranalyse; dasselbe war zuerst im Vacuum bei 30° vollkommen getrocknet worden.

In diesem Zustande stellt das lösliche Globulin des Diphtherieserums in ca. 3 mm dicker Schicht eine stark durchscheinende, fast durchsichtige, leimartige Platte dar, welche ein genauer Abguss des Gefässes ist, in dem es getrocknet wurde.

Die Farbe ist bräunlichgelb, heller als Kölnerleim; völlig trocken, ist die Substanz ausserordentlich hart, und zeigt einen glasscharfen und glänzenden Bruch.

Im Gegensatz dazu stellen die unlöslichen Globuline eine opake, kaum durchscheinende Masse dar; ein Unterschied, der sich wohl aus dem Eintrocknen dort von einer Lösung, hier von einem Niederschlage erklärt.

Nach dem Trocknen im Vacuum wurde die Substanz zu feinstem Pulver zerrieben und dann weiter im Vacuum getrocknet. Dieses Zerreiben gelingt, wenn man rasch arbeitet, sehr gut, da das Globulin trocken sehr spröde ist; weil es aber als sehr hygroskopischer Körper äusserst rasch atmosphärisches Wasser anzieht, wird es bei längerem Versuche an der Luft klebrig und lässt sich nicht mehr pulverisiren.

Gewichtsconstanz war bei einem Vacuum von 12 mm Quecksilber und 20° erst nach mehr als 2 Wochen eingetreten.

Auf 100 Gewichtstheile Substanz:

	I	II	III
Kohlenstoff	53·02	52.90	53·22
Wasserstoff	7·12	6·86	6·90

Mittel: 53·05 Procent Kohlenstoff
6·96 „ Wasserstoff.



Zur Bestimmung des Aschen- und Stickstoffgehaltes benutzte ich ein nach der oben angeführten Methode gewonnenes, besonders hochwerthiges Serum.[1]

Die Mittelzahlen aus zwei Parallellbestimmungen sind:

Gewicht von 5 ccm: 5·19175
Spec. Gew.: 1·03835 Temp. 17·5°
(mittels des Araeometers: 1·035).

Trockenrückstand bei:

100° 0·5336
110° 0·5011

Glührückstand: 0·00435
= 0·87 Proc. glühbeständige Asche von dem bei 110° trockenen Globulin.

Stickstoffgehalt von 5 ccm:

22·825 ccm 1/4 norm. Säure
= 15·967 Procent Stickstoff vom aschefreien Globulin.

Daher in 100 Theilen:

C = 53·05
H = 6·96
N = 15·97
Asche = 0·87
O, S = 23·15.

Die Zahlen zeigen gegenüber den für normales Gesammtglobulin bekannten ein Plus an Stickstoff und Kohlenstoff, ein unbedeutendes Minus an Wasserstoff.

Die Analysen für lösliches Globulin aus normalem Pferdeserum wird cand. med. Markus demnächst veröffentlichen.

Die Substanz erwies sich als phosphorfrei.

Die auffallende Thatsache, dass es Hrn. cand. med. Markus durch Monate lange Dialyse normalen Serumglobulins gegen chloroformhaltiges destillirtes Wasser gelungen ist, wesentlich aschenärmeres lösliches Globulin zu erhalten, während mein bei 110° getrocknetes, aus Heilserum hergestelltes 0.87 Procent Asche enthielt, glaube ich mit folgenden Gründen erklären zu sollen: Einerseits dialysirte ich gegen fliessendes Wasser der Wiener Hochquellenleitung, — ein mittelhartes Wasser — aus dem der Eiweiss-

[1] Die Substanz musste, weil sehr hygroskopisch, unter den äussersten Cautelen abgewogen werden; die Verbrennung im Kupferschiffchen, mit Bleichromat und Kaliumbichromat verlief ohne die Bildung von Stickoxyperoxyddämpfen.



körper allerdings geringe Mengen von Salzen aufzunehmen und chemisch zu binden scheint, andererseits beobachtete ich bei Globulinlösungen, welche nicht mit Kalialaun vorbehandelt waren, ascheärmere Endproducte, als bei den auf Dr. Freund und Dr. Sternberg's Weg dargestellten.

Obgleich die Lösung keine freie Schwefelsäure enthielt, liessen sich in der Probe Spuren von Aluminium nachweisen; somit erscheint eine geringe Menge Kalialaun chemisch gebunden worden zu sein.

Die specifische Drehung

unseres löslichen Globulins bestimmte ich an dem vortrefflichen Apparate des hiesigen Institutes, einem neuen grossen Halbschattenapparate nach Lippich von Schmidt und Haensch in Berlin.

Der Nonius gestattet, mit Sicherheit ganze $^1/_{100}$ Grade zu messen, halbe zu schätzen.

Die Drehungsbestimmung erfolgte bei 18° C. Natriumlicht, im 20 ^{cm} langen Rohre.

Die oben zur Aschebestimmung und Stickstoffanalyse verwendete Lösung wurde zu diesem Zwecke auf das fünffache Volumen und einen Gehalt von 0·04 Procent Kochsalz gebracht, der sich zur Klärung der stark opalescirenden Flüssigkeit nothwendig erwies; die Concentration betrug 0·1002, die abgelesene Drehung als Mittel von fünf Bestimmungen 1·018°.

Daher die

spec. Drehung = **50·76** für aschehaltiges,
= **51·21** für aschefreies, lösliches Globulin aus Heilserum.

Fredericqu[1] hat für Serumglobulin die spec. Drehung = — **47·8** in salzhaltiger Lösung gefunden.

Marcus hat für sein aschefreies, lösliches Globulin aus normalem Pferdeserum die Drehung zu **47·98** also sehr nahe obigem Werthe gefunden.

Die oben erwähnte Verdünnung und der geringe Salzzusatz waren nöthig, um die Opalescenz der Lösung, welche einer ganz exacten Drehbestimmung im Wege stand, zu vermindern, um so mehr, als ich mich im Interesse der Verminderung nothwendiger Fehler nicht entschliessen konnte, den „Halbschattenwinkel" über 5° zu erhöhen.

Wenn auch gewiss nicht in Abrede zu stellen ist, dass eine solche „Aufhellung" einer opalescenten Lösung einer Auflösung eines ungelösten Körpers gleichkommt, dass also in die reine Lösung „löslichen Globulins"

[1] *Bullet. Acad. Royale de Belge* (2). T. L.

durch ein unlösliches Globulin geradezu hineingebracht wird, so halte ich doch auf Grund vielfacher Controlbestimmungen den hierdurch verursachten Fehler für zu gering, als dass er das vorliegende Resultat wesentlich beeinflussen könnte. Ausserdem liegt die Drehung des unlöslichen Globulins so nahe unserem Werthe, andererseits ist auch für jenes der Werth in Salzlösung bestimmt worden.

Um auch diesem Einwande gerecht zu werden, habe ich die salzfreie, unverdünnte Globulinlösung polarisirt und zur Ueberwindung der Opalescenz Bogenlicht mit ausgekochten, Kochsalz enthaltenden Kohlen als Lichtquelle verwendet; natürlich stellte ich den neuen Nullpunkt des Apparates gegenüber dem optischen Schwerpunkte dieser Lichtquelle neu ein.

Die Resultate fielen jedoch stets innerhalb jener oben angegebenen Werthe.[1]

Coagulationstemperatur.

Die Coagulationstemperaturen wurden in der 1 procent. Lösung des Globulins bestimmt:

1. ohne Salzzusatz,
2. mit 0·6 procent. Kochsalzgehalt,
3. „ 5·0 „ „ ,
4. „ 10·0 „ „ ,
5. „ $^1/_{1000}$ normal Alkali,
6. „ $^1/_{1000}$ normal Säure.

[1] Wegen der hohen Wichtigkeit, welche man der specifischen Drehung als Charakteristicum eines jeden Eiweisskörpers beilegt, füge ich einige Worte zur Methodik ihrer Bestimmung bei:

Für spätere Drehbestimmungen opalescenter oder leicht trüber Lösungen würde sich die Verwendung des Heliostaten, also Sonnenlicht, und das von Landolt (*Optische Drehungsvermögen organischer Substanzen.* 1897) empfohlene Uran-Chromsäurefilter empfehlen.

Hierdurch würden zwei Cardinalforderungen für jede Drehbestimmungen erfüllt: 1. möglichste Verkleinerung des Halbschattenwinkels, 2. Verstärkung der Intensität der Lichtquelle.

Eine noch schärfere Definition der verwendeten Wellenlänge wäre durch spectrale Zerlegung zu erreichen, aber dieser Vortheil wäre nur durch den grossen Nachtheil einer geschwächten Intensität zu erkaufen, zudem lässt sich der optische Schwerpunkt für jedes Filter so genau bestimmen, dass der hierbei mögliche Fehler ein kleiner Bruchtheil jener ist, welche durch ungenügende Definition der Reinheit und Concentration der Lösungen bedingt sind.

Einer Eiweissbestimmung durch Polarisation möchte ich aber gerade auf Grund meiner hier gemachten Erfahrungen nicht das Wort reden; hier wird immer die Stickstoffbestimmung, noch mehr aber die directe Wägung des entfetteten und getrockneten Körpers die allerdings complicirtere, aber chemisch richtigere Methode bleiben, so lange die Drehungsconstanten der einzelnen Eiweisskörper und deren Beeinflussung durch Salze u. s. w. nicht genauer, als bisher, bestimmt sind.



1. Heilserumglobulin ohne Salzzusatz:
   - 70 bis 72° feinste Trübung,
   - 74.5° dichte Trübung, nach 3 Minuten Kokkenbildung.
     - 75° Filtration. Filtrat:
   - 77 bis 78° Flocken,
     - 78° Filtrat: Spuren Eiweiss.
2. Mit 0·6 procent. Kochsalzgehalt:
   - 70 bis 71° Trübung,
   - 75° dichte Trübung, Flocken setzen sich ab,
     - 76° Filtrat: Bis auf feinste Spuren frei von Eiweiss.
3. und 4. 5- und 10 procent. Kochsalzgehalt:
   - 71° leichte Trübung,
   - 76 bis 77° vollständige Fällung,
5. $^1/_{1000}$ normal Alkali (Kalilauge):
   - 63° erste Trübung,
   - 66° stärkere Trübung,
   - 71° starke Trübung,
   - 74° Flocken,
     - 75° Filtration. Filtrat:
   - 76° Trübung,
   - 77° stärkere Trübung,
   - 80 bis 90° zunehmende Trübung.
   - 96° Filtrat beim Kochen klar, auf Neutralisiren starke Flockenbildung.
6. $^1/_{1000}$ normal Säure (Salzsäure):
   - 58° erste Trübung,
   - 70° zunehmende Trübung,
   - 75° " " ,
   - 90° keine Flocken,
     - 98° Filtration: Filtrat auf Alkalizusatz bis zur Neutralisation vollkommene Fällung.

In den anfänglich ausgeführten Vergleichen der Coagulationstemperaturen löslicher Globuline vom normalen und vom immunisirten Pferde wurden vom Heilserum das mit Kalialaun-Ammonsulfat, vom normalen Serum nur das mit Ammonsulfat gewonnene Globulin benützt.

Bei weiteren Vergleichen zeigte sich, dass der Weg, auf dem das Globulin erhalten worden war, von deutlichem Einfluss auf die Coagulationstemperatur war.

In den hier angeführten Coagulationsbestimmungen wurden also gleiche Mengen normales und Heilserum in genau gleicher Weise mit



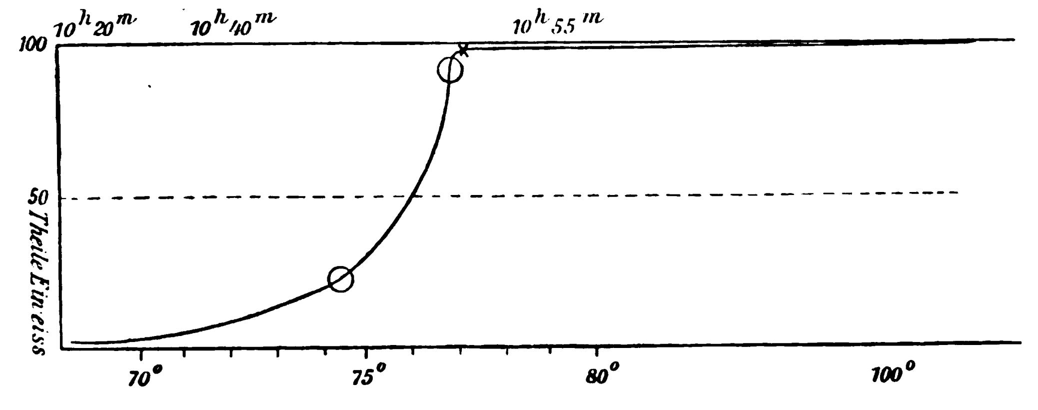
Ammonsulfat gefällt, die Niederschläge je zwei Mal gewaschen, gelöst, neuerdings gefällt und dialysirt.

Die Bestimmungen selbst wurden in zwei Eprouvetten, welche neben einander in einem grossen Wassergefäss befestigt waren, vor einem matt-schwarzen Hintergrunde vorgenommen. Eine gegen den Beobachter abgeblendete Glühlampe beleuchtete die Eprouvetten so intensiv, dass feinste Staubtrübungen viel früher als bei günstigstem Tageslicht leicht wahrnehmbar werden.

Heilserumglobulin		Normales Serumglobulin	
50°	Keine Trübung	50°	Keine Trübung
56	„ „	56	Feinste Trübung
58	Feinste Trübung	65	Flocken (I)
64	Trübung	66	Absetzen der Flocken
68	Starke Trübung	67	Trübung über den Flocken
69	Flocken	68	Neue Flocken (II), Absetzen ders.
71	Reichl. Flocken (I), Filtration	71	Neuerliche Flocken (III)
75	Starke Flocken	75	Feinste Staubtrübung
76—77°	Flocken	75	Filtrat = eiweissfrei

Zeigten diese Bestimmungen, wie ausserordentlich empfindlich die Coagulationstemperaturen nicht nur gegenüber der Reaktion, sondern sogar gegenüber jener Salze sind, mit denen die Eiweisskörper vorher in Berührung gewesen waren, so fielen doch die Hauptmengen der löslichen Globuline bei 75 bis 76° in Form von Flocken aus.

Die Protocolle über diese Bestimmungen führte ich auch in Form von Curven, von denen ich eine, die zu Versuch Nr. 2 gehörige, als Beispiel anführe:



In sehr übersichtlicher Weise geben diese Curven einen Aufschluss über die Zeit, innerhalb welcher die Temperatursteigerung erfolgte, und



die zu jeder Temperatur gehörige Menge von gelöstem und coagulirtem Eiweiss.

Die Ordinaten sind Procente vom Gesammteiweiss.

Die Höhe der Ordinate 100 über der Abscissenachse wird entsprechend der Gesammtconcentration der Lösung gewählt.

○ bedeutet Flockenbildung, o kleine Flocken, × Filtration.

Beruhen die Höhen der Ordinaten allerdings nur auf Schätzung, so geben die Curven doch sofort ein deutliches Bild des Coagulirungsverlaufes.

Im Gegensatz zum Paraglobulin des Serums fehlt hier ein dritter Coagulationspunkt bei 83°, während jener bei 71° angedeutet erscheint.

Der Hauptunterschied zwischen dem löslichen Globulin aus normalem Serum und dem aus Heilserum besteht darin, dass beim normalen Serum deutliche Fällungspunkte bei 65, 68, 71° bestehen, bei 71° bis auf Spuren alles Globulin coagulirt wird, während beim Heilserum erst bei 71° Flocken auftreten, die Hauptmenge erst bei 75° coagulirt ist, daneben noch viel grössere Reste in Lösung bleiben.

Auch die von cand. med. Marcus gefundenen Coagulationspunkte für salzfreies, normales Globulin liegen wesentlich tiefer, als die für Heilserum gültigen.

Endlich habe ich zwei auf vollkommen gleiche Weise, gleichzeitig hergestellte Lösungen von normalem und Heilserumglobulin der Gefrierpunktsbestimmung nach Beckmann unterzogen.

Die beiden ergaben ganz gleiche, aber viel zu starke Erniedrigungen der Gefrierpunkte, entsprechend dem Aschengehalt, den sie aus den oben angeführten Gründen aufwiesen.

Da eine exacte Bestimmung der Salzmenge durch Veraschen der entstehenden Ammonsalze wegen, durch Widerstandsmessung mangels der entsprechenden Apparate nicht möglich war, glaubte ich mich mit dem erwähnten Resultate: „Gleich behandelte Globuline vom normalen und immunisirten Pferde zeigen gleiche Gefrierpunktserniedrigung", um so eher begnügen zu können, als Differenzen in den Hundertstelgraden Molekulargewichtsänderungen in den Tausenden von Wasserstoffeinheiten bedeuten, dieser Bestimmung also in quantitativer Richtung ein Werth nur bei grossen Unterschieden beizulegen wäre.[1]

[1] Wie grosse Bedenken sich gegen alle einschlägigen Moleculargewichtsbestimmungen von Eiweisskörpern erheben lassen, zeigt u. A. die lesenswerthe Arbeit von H. Friedenthal. *Centralblatt für Physiologie.* 1899. Bd. XIII. S. 53.



Allerdings könnten solche Differenzen eben durch den Aschengehalt, durch die Salze verdeckt werden und die Eliminirung dieses Factors ist eben exact nur durch elektrische Widerstandsmessung möglich.

Aus den quantitativen Untersuchungen haben sich somit zwischen den löslichen Globulinen des normalen Serums und des Heilserums entscheidende Unterschiede nicht ergeben.

Auch die Hoffnung, aus der Verschiebung der Mengenverhältnisse des einen Eiweisskörpers zu Gunsten des anderen Schlüsse auf die Antitoxinbildung ziehen zu können, hat sich nicht erfüllt; doch wurde durch den Ausschluss der Albumine und der unlöslichen Globuline das Feld künftiger chemischer Untersuchungen wesentlich eingeschränkt; dieselben werden sich mit den löslichen Globulinen allein beschäftigen.

Ferner haben wir Unterschiede in den Coagulationstemperaturen und der Drehung gefunden, von denen es noch dahingestellt sein mag, ob dieselben einer Aenderung des Globulins oder einer Verbindung desselben mit einem Antitoxin unbekannter chemischer Natur zuzuschreiben sind.

Hat sich aus den Untersuchungen meiner Vorgänger und den meinigen die eine Thatsache ergeben, dass die Heilwirkung des Diphtherieheilserums in jener Salzfällungsfraction enthalten ist, die wir Globulin nennen, des Weiteren aus Versuchen, die an die von cand. med. Marcus für normales Serum ausgeführten anschlossen, dass die Antitoxine speciell bei jenen Globulinen verbleiben, welche bei der Dialyse nicht unlöslich werden, so ist damit allerdings nur ein weiteres Glied in die Kette jener Beobachtungen eingefügt, welche die Globuline als die meist activen Träger physiologischer Wirksamkeit erkennen lassen.

Dass die Diphtherieantitoxine deshalb Eiweisskörper sind, weil wir sie von den löslichen Globulinen nicht befreien konnten, wollen wir nicht behaupten; dass wir andererseits mit unseren relativ eingreifenden Reagentien keine weiteren Aufschlüsse über die Natur eines gegen Licht, Wärme, Sauerstoff so ausserordentlich empfindlichen Körpers keine weiteren Aufschlüsse zu erlangen vermochten, darf uns nicht abschrecken, diese Untersuchungen mit den zarteren Reagentien des thierischen Körpers fortzusetzen.

Weiter haben diese Untersuchungen einiges Licht in die mannigfachen Widersprüche zwischen den neuesten Autoren auf unserem Gebiete gebracht.

Belfanti und Carbone gelangen in einer kürzlich erschienenen Arbeit[1] zu dem Schlusse, dass die Globuline den Antitoxinen anhaften, wenn sie durch Magnesia- oder Ammonsulfat, nicht aber, wenn sie durch Kohlen- oder Essigsäure gefällt werden.

[1] *Archivio per la szienze mediche.* Vol. XXII. Nr. 2.



Nach unseren Untersuchungen stellt der durch Neutralisiren des Serums — ein Punkt, der vermöge der Reaction der Phosphate erst bei saurer Reaction gegen Lakmus erreicht ist — erhaltene Niederschlag den grössten Theil unseres „unlöslichen" Globulins dar, der Rest desselben wird durch die Salze in Lösungen gehalten; die Antitoxine bleiben beim löslichen Globulin. Auch diesen Autoren ist eine Abspaltung der Globuline von den Antitoxinen auf den verschiedensten Wegen nicht gelungen.

Die Arbeit von Szontagh,[1] so reich sie auch an anderweitigen Resultaten sein mag, hat auf die Frage nach dem Mengenverhältniss zwischen Globulin und Albumin wenig Einfluss, da er bei ein und demselben Serum in Folge der verwendeten Methode einmal 0·766, das andere Mal 6·24 Proc. Globulin fand.

Dagegen fand derselbe Autor ebenfalls einen höheren Gesammteiweissgehalt des Heilserums gegenüber der Norm.

Das von uns erhobene Mittel für Heilserum, 8.26 Procent, übertrifft noch mehr als nach Szontagh's Untersuchungen das Normale von 7·26 (Hammarsten) oder 7·5 (Szontagh). Leider ist bei dem Studium der Eiweissänderung während einer Immunisirung nicht das Fortschreiten der Immunisirungshöhe angegeben, doch glaube ich auf Grund meiner und dieser Untersuchungen die Vermuthung aussprechen zu dürfen, dass die Höhe des Eiweissgehaltes nicht direct mit der Antitoxinbildung, sondern mit anderen pathologischen Vorgängen zusammenhänge.

Die scheinbaren Widersprüche in den Arbeiten von Smirnow[2] und Dieudonné[3] sind in völlig befriedigender Weise durch unsere Untersuchungen aufgeklärt.

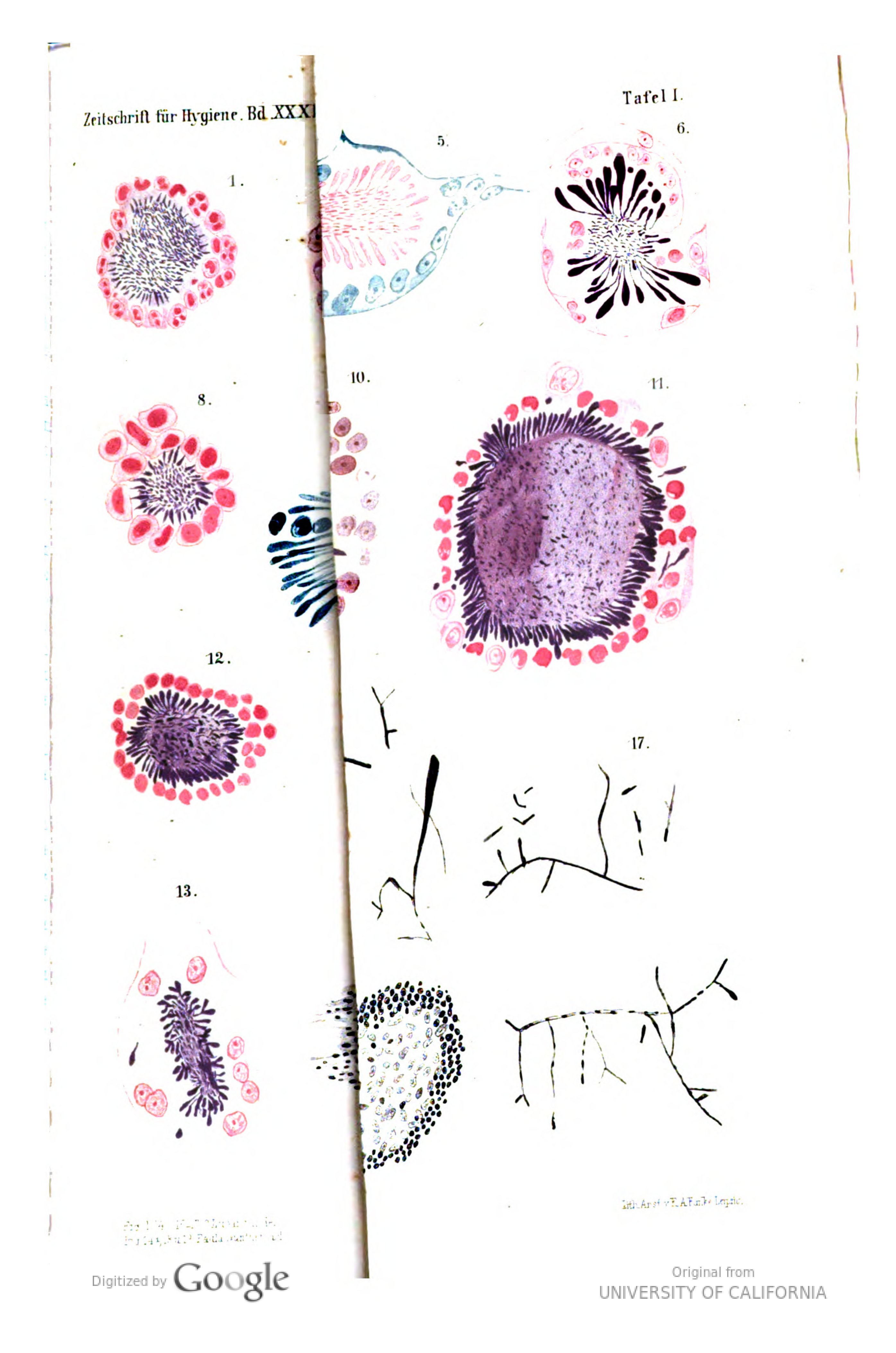
Gegenüber Smirnow, der in der Magnesiasulfatfällung die Heilwirkung beinahe quantitativ wiederfand, wendete Dieudonné ein, dass „reines Globulin", besonders wenn es durch Kohlensäure gefällt worden war, aber auch durch Dialyse erhaltenes, keine Heilwirkung entfalte. Alle diese Beobachtungen werden durch die Thatsache erklärt, dass die „unlöslichen Globuline", d. h. die durch Dialyse ausfallenden, ebenso wenig Antitoxine enthalten als das Albumin, dieselben in Säure an den löslichen Globulinen haften, während alle hier aufgeführten Autoren die unlöslichen für die Gesammtheit der Globuline oder doch „besonders reine" Globuline ansahen.

[1] *Deutsche med. Wochenschrift.* Bd. XXIV. Nr. 27.

[2] *Archives des sciences biologiques publiées par l'Institut Impérial de médicine expérimentale à St. Pétersbourg.* 1895. T. IV. Nr. 3.

[3] *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt.* Bd. XIII. S. 293.




Zeitschrift für Hygiene. Bd. XXXI
Tafel I.
1.
5.
6.
8.
10.
11.
12.
13.
17.
Lith.Anst.v.E.A.Funke Leipzig.

2.

4.

3.

5.

7.

6.

Verl. & Comp.

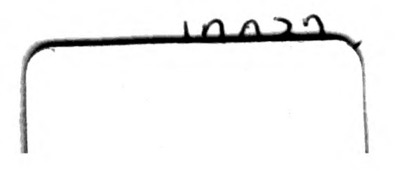


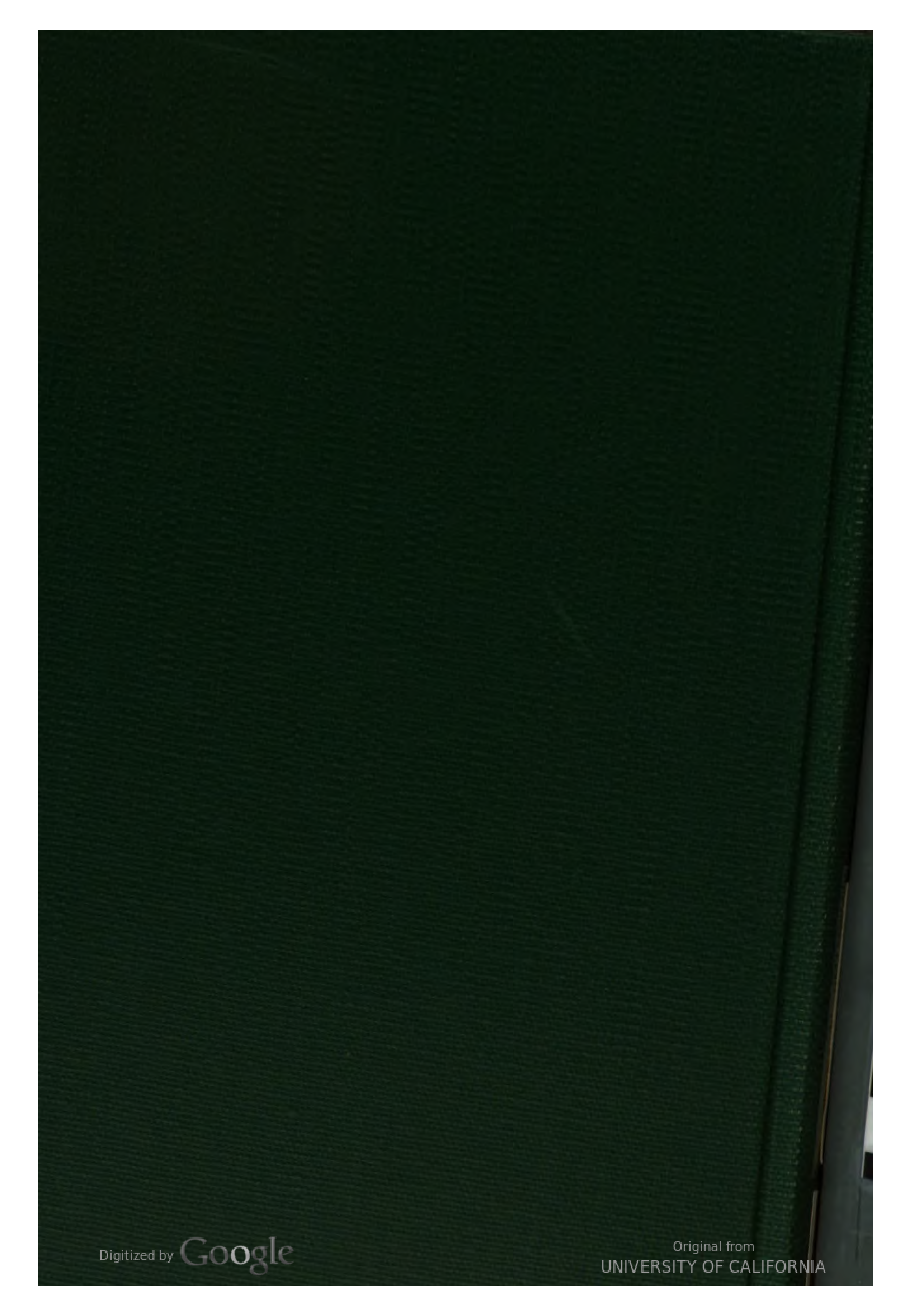











Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF CALIFORNIA